

Maja Marklund
PhD-student, KTH

SciLifeLab



Spatial Transcriptomics

- Ny teknik för 2D-visualisering av gener i vävnader



- Från Skellefteå
- Civilingenjör, Medicinsk Bioteknik, KTH
- Forskning: Spatiell analys av nukleinsyror
 - Institutionen för Genteknik, KTH



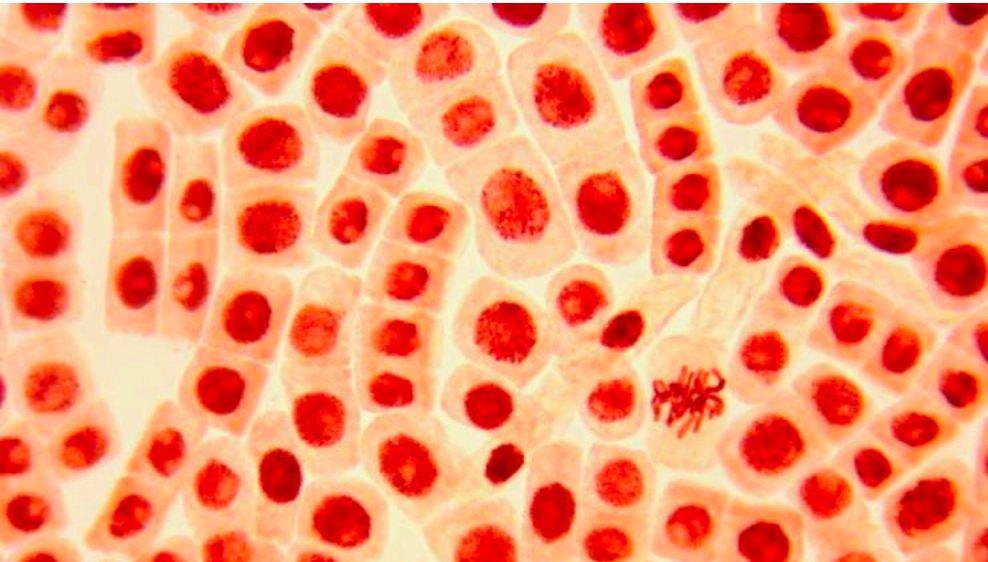
- Vetenskapligt centrum för molekylärbiologisk forskning
- Drivs av KTH, Karolinska institutet, Stockholms universitet och Uppsala universitet

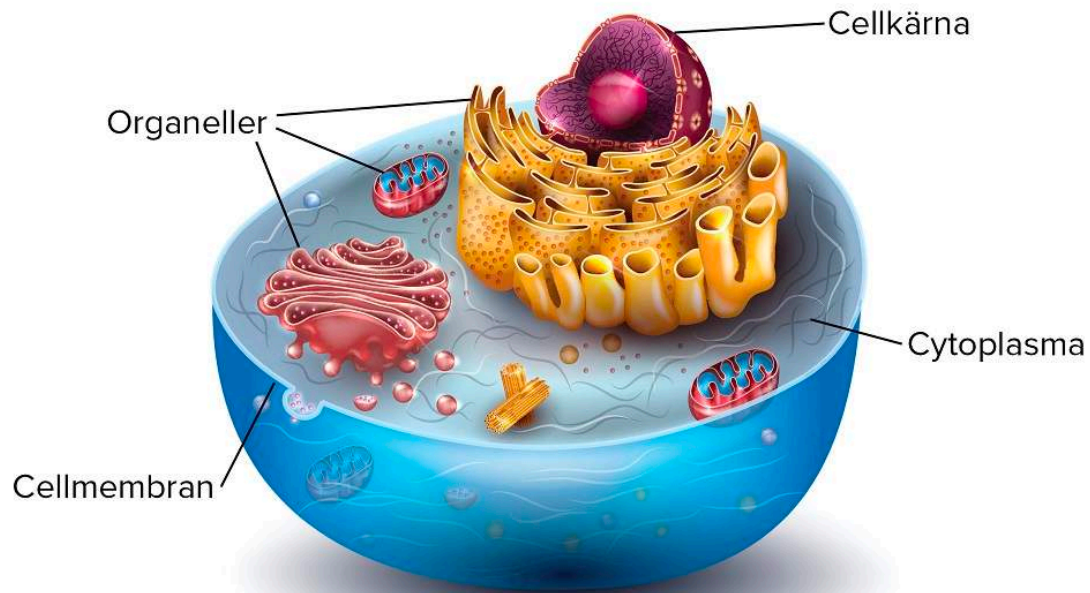


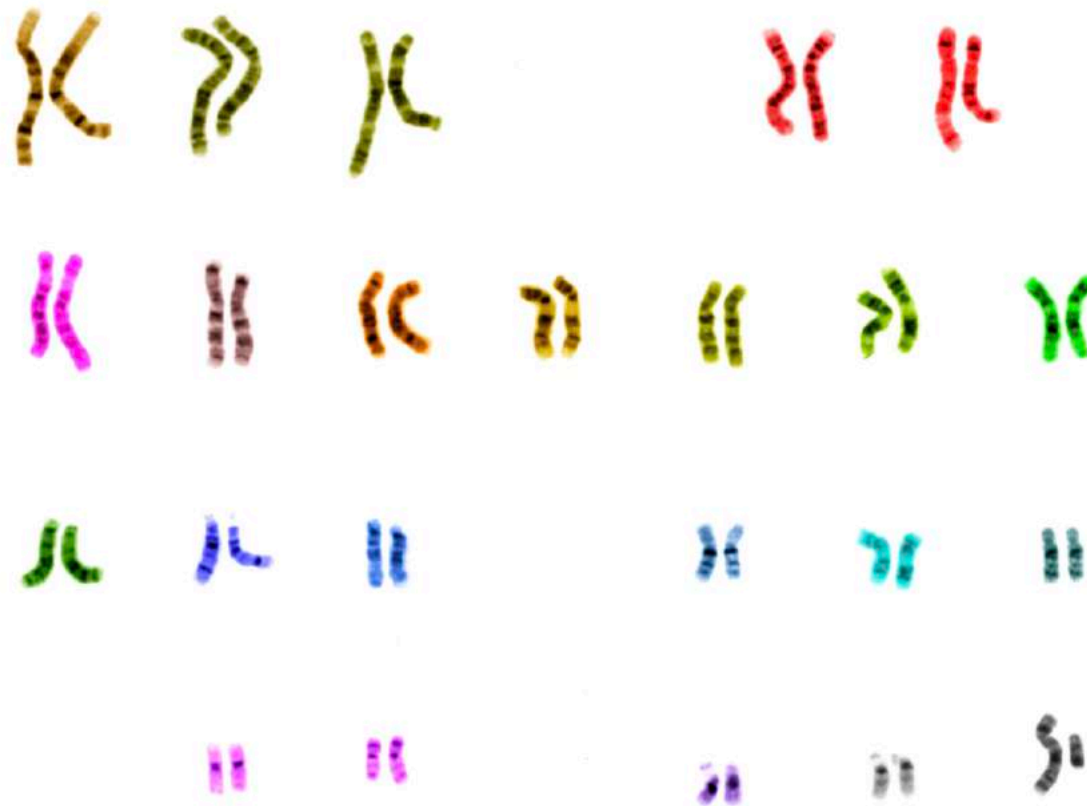


- Bakgrund
 - Vävnader och celler
 - Genomet
 - Analys under mikroskop
 - Mutationer
 - Cancer
 - DNA-sekvensering
- Kunskapsglapp som behöver fyllas i
- Tekniken vi utvecklat: Spatial Transcriptomics
- Spatial Transcriptomics applicerat på prostatacancer
- NASA-samarbete

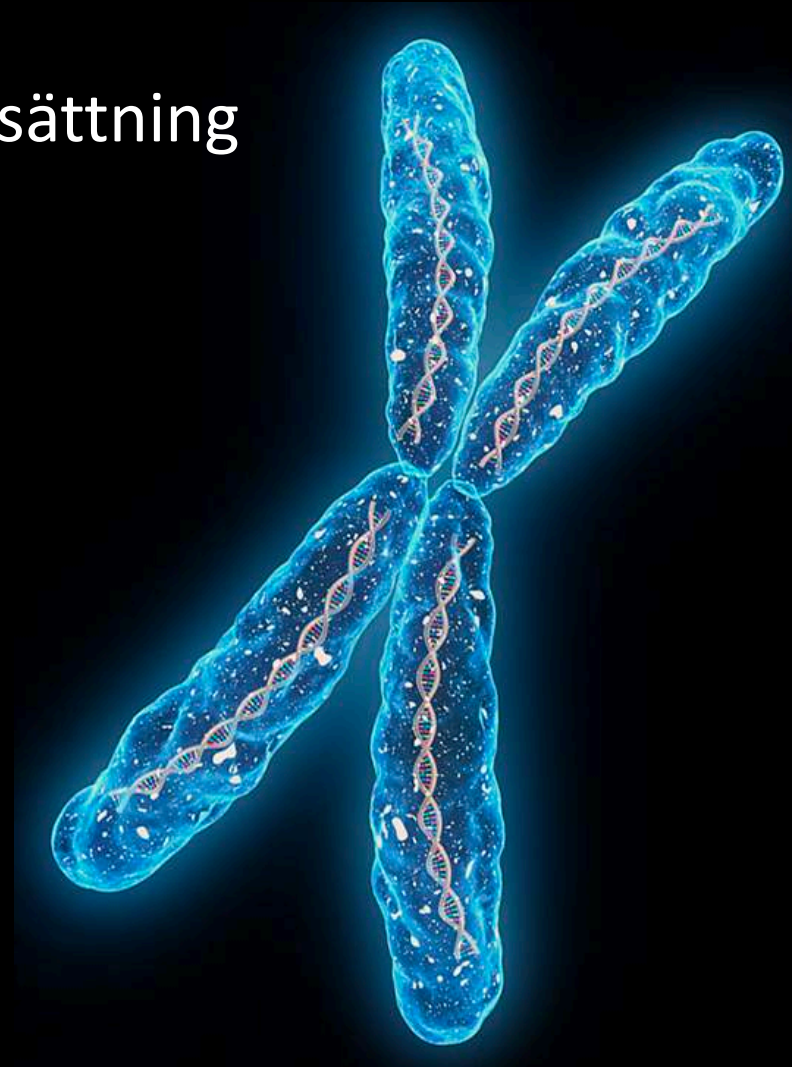




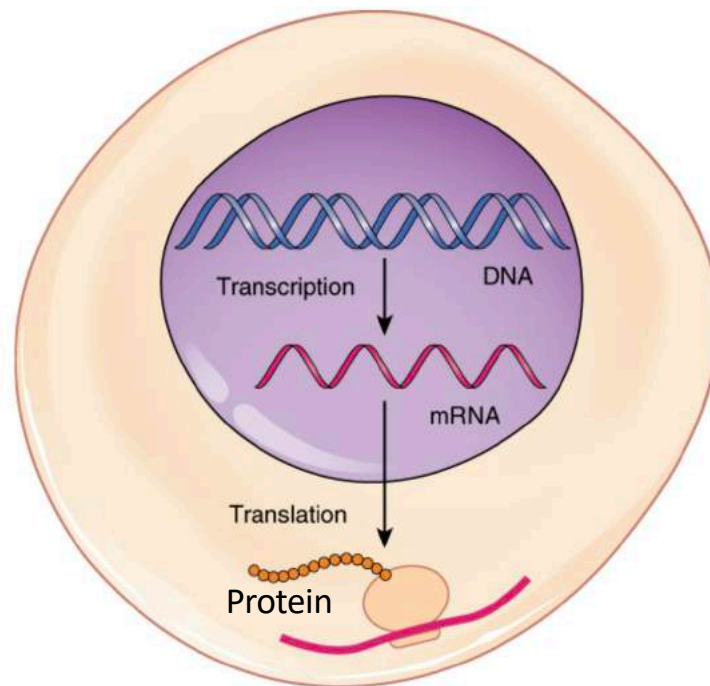




- 3 miljarder baspar per enkel uppsättning
- Proteinkodande regioner
 - ca 21 000 gener
 - Utgör ca 1% av hela genomet
- Icke proteinkodande regioner
 - Reglerande sekvenser
 - Okända funktioner (="junk DNA")



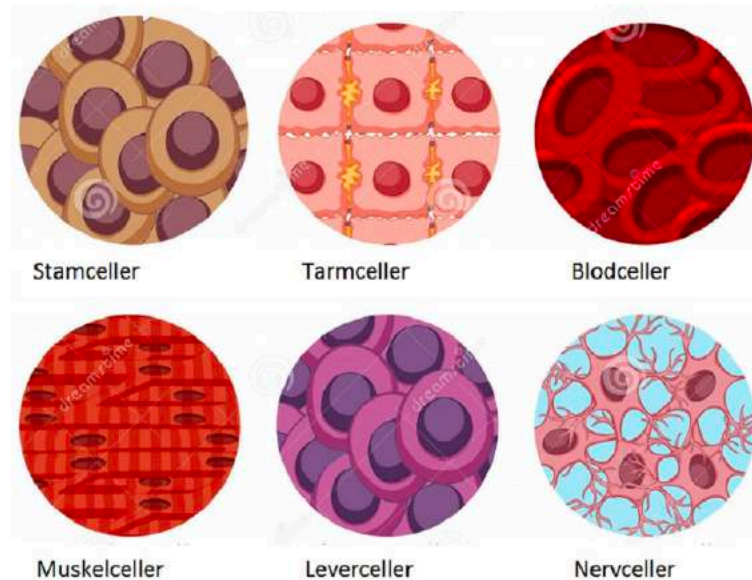
Centrala dogmat



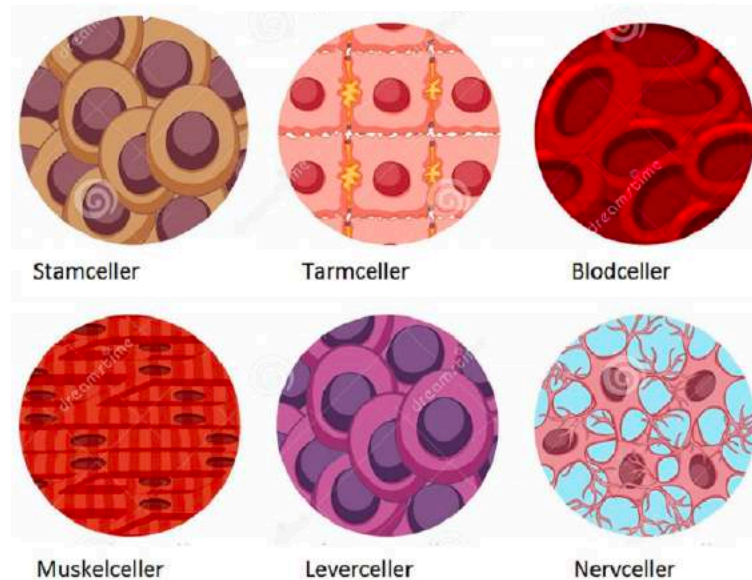
DNA
= Genetiska koden

messenger RNA (mRNA)
= budbärmolekylen

Protein = huvudbeståndsdelen
i allt levande

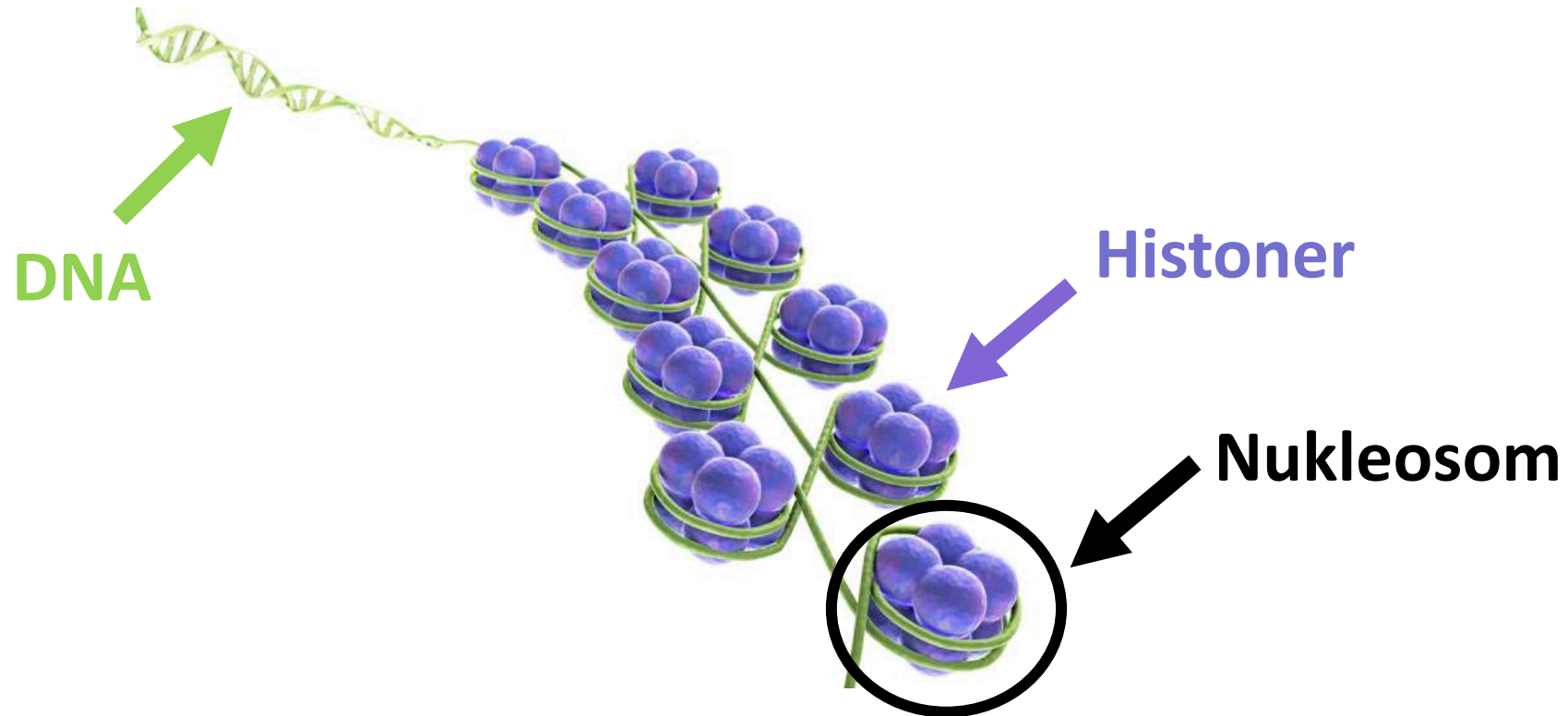


DNA är identiskt i alla celler i en människa. Men ändå ser celler olika ut, tex hårceller, hudceller, hjärtceller etc. Hur kan det komma sig?

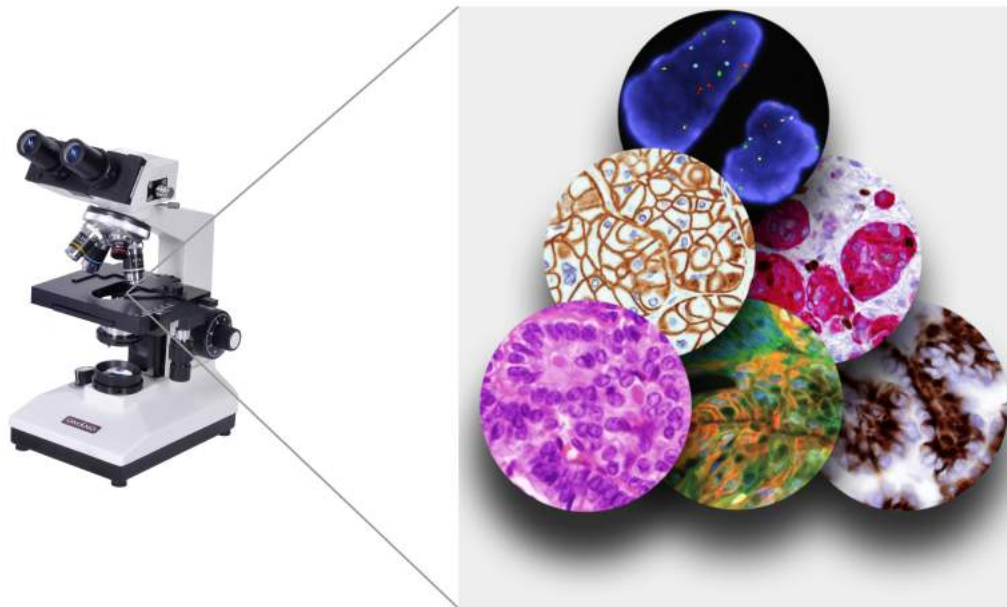


DNA är identiskt i alla celler i en människa. Men ändå ser celler olika ut, tex hårceller, hudceller, hjärtceller etc. Hur kan det komma sig?

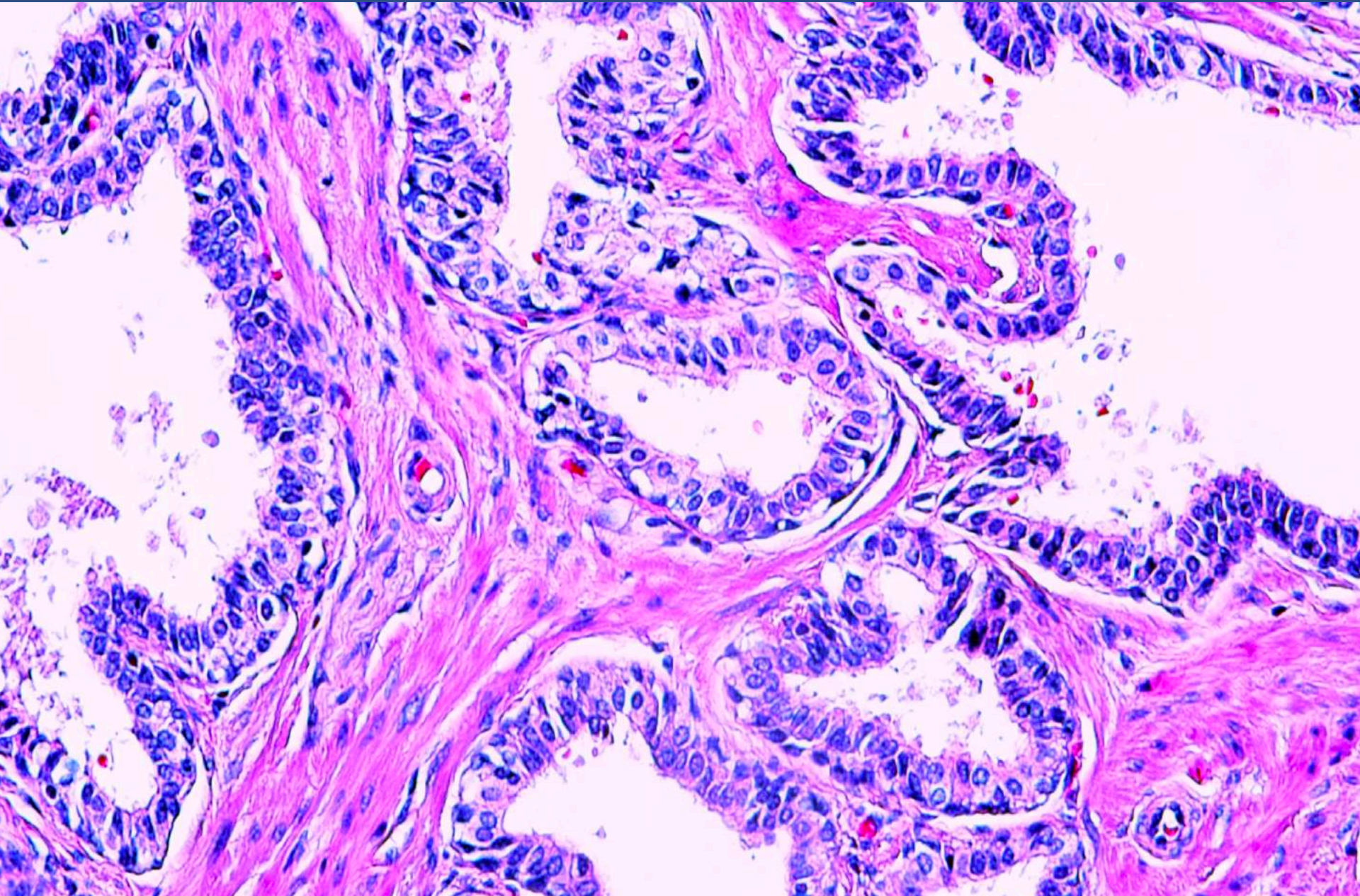
Aktivering av specifika gener



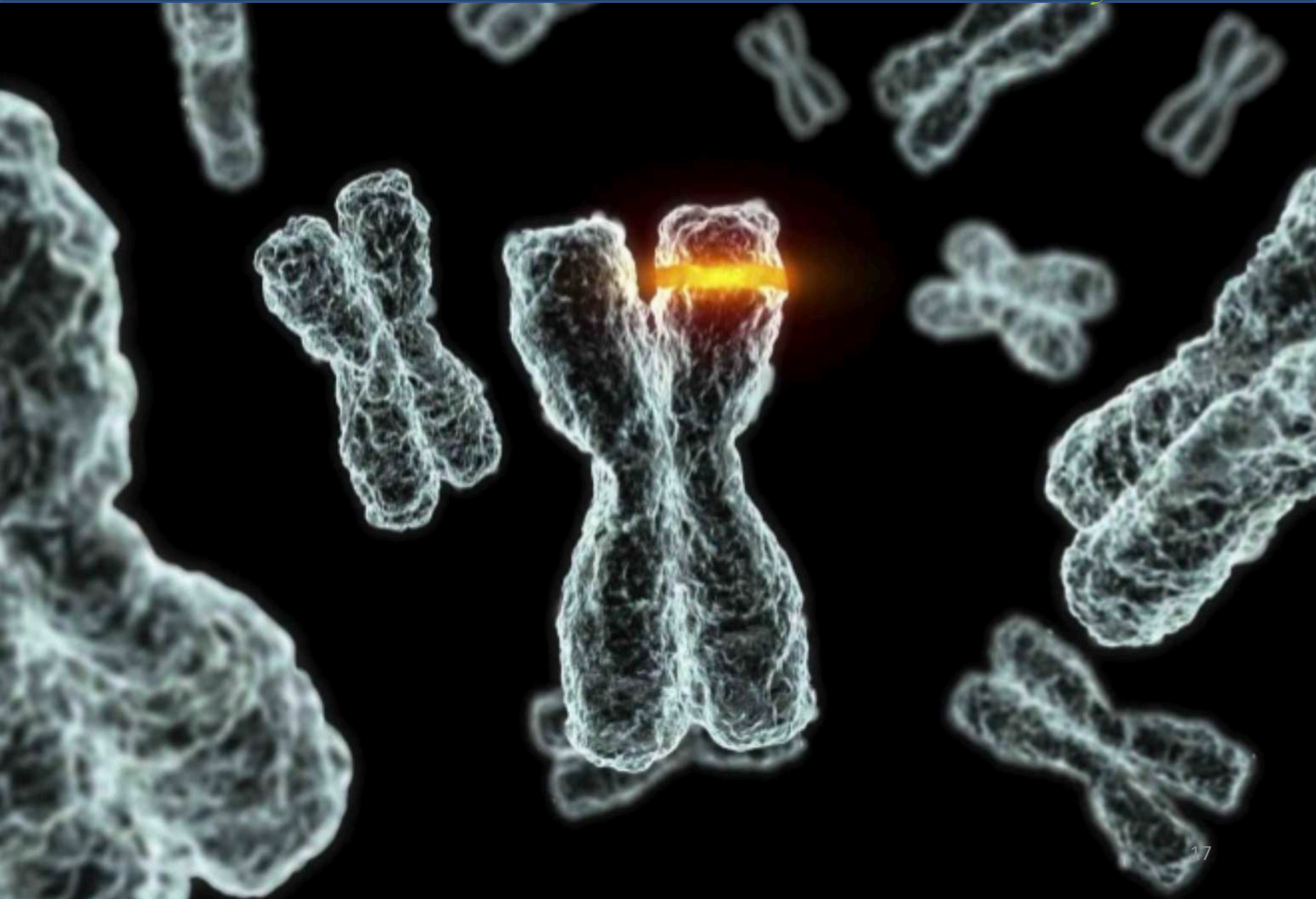
Analys i mikroskop



Infärgning av vävnad



Mutationer

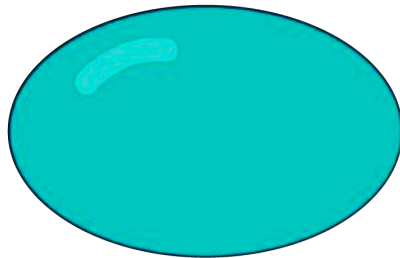
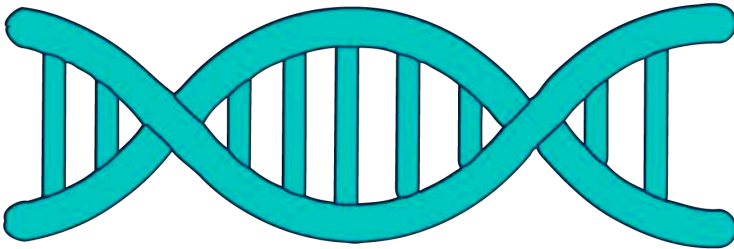


- Orsaker:
 - slumpmässiga kopieringsfel under celldelningen
 - UV-strålning, annan strålning
 - Giftiga kemikalier
 - etc.
- Reparationsmekanismer lagar många av felen
 - Apoptos = Programmerad celldöd
- Sker många mutationer hela tiden. De flesta mutationer sker på platser där det inte påverkar ngt alls, så om reparationsmekanismerna misslyckas att laga det, så gör det inget.
- Genmutation: Om det sker så det påverkar gener eller regleringen av gener → påverkan



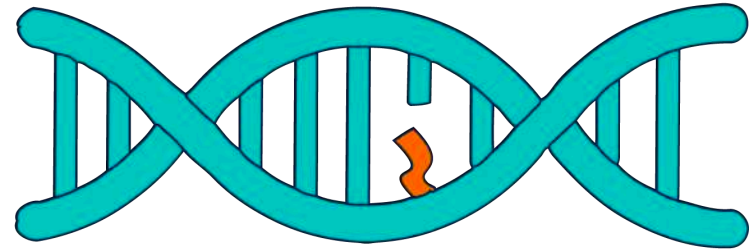
Mutationer = förändringar i celler genetiska material

Normal Gene

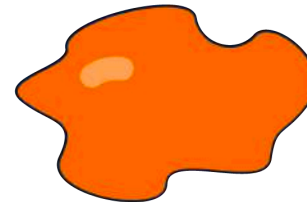


Normal Protein

Mutated Gene



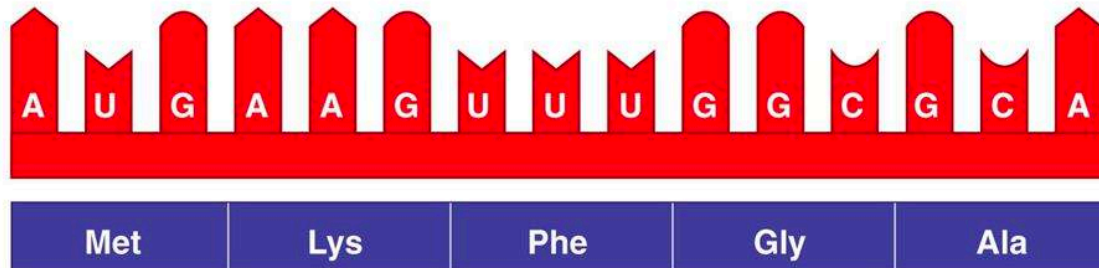
or



Abnormal Protein

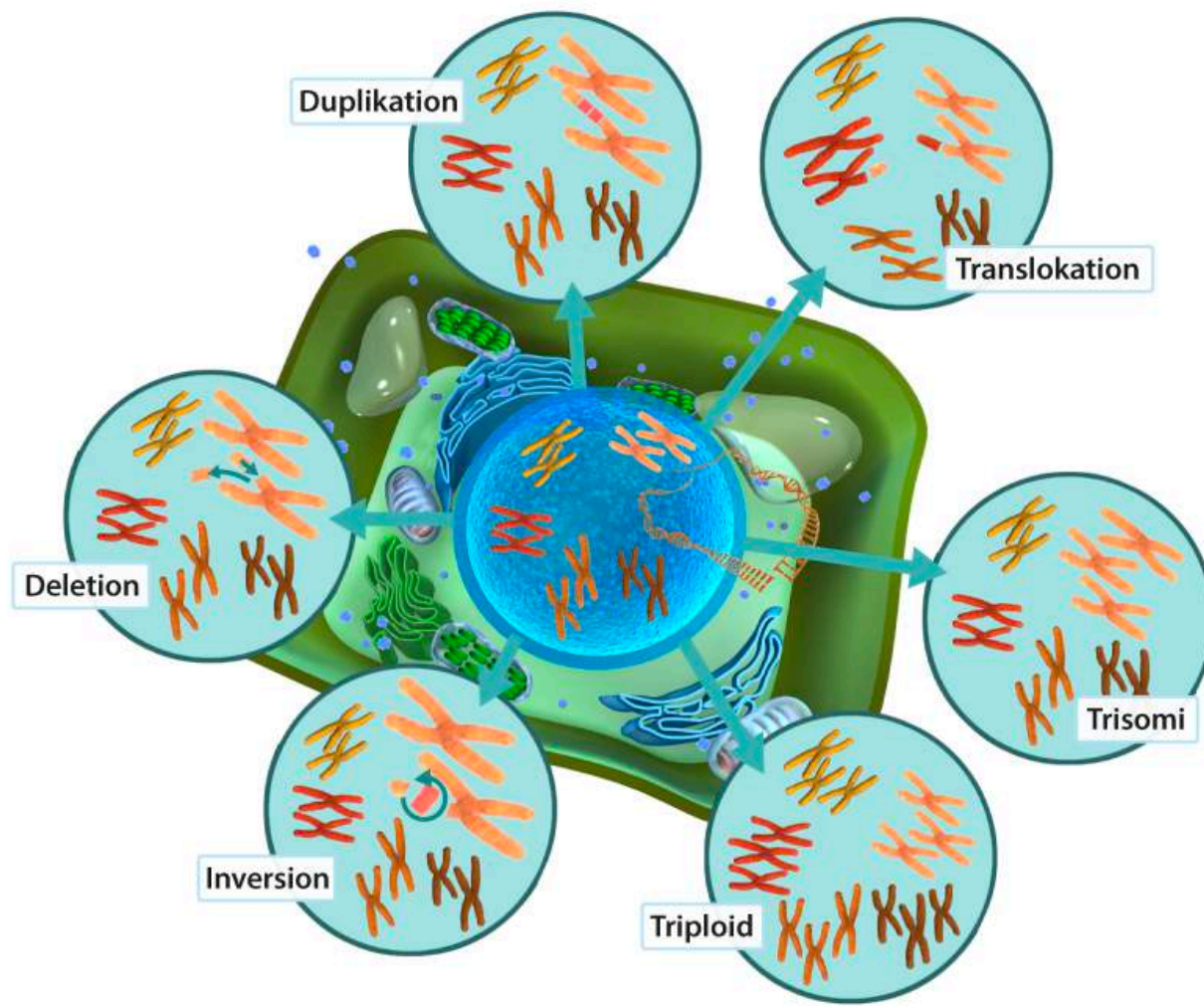
No Protein

- Punktmutation
- Deletion = enstaka baspar försvinner
- Insertion = enstaka baspar läggs till



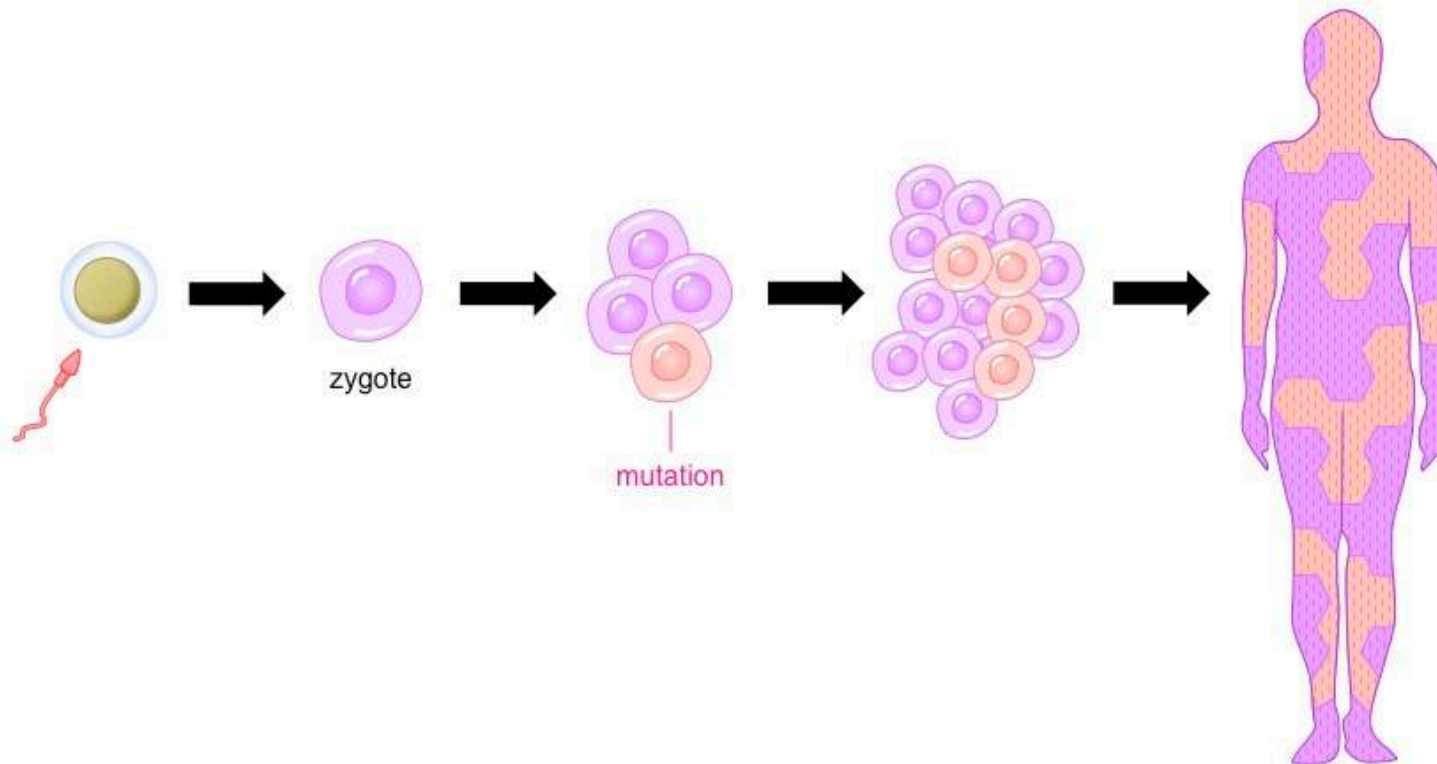
mRNA and protein from a normal gene



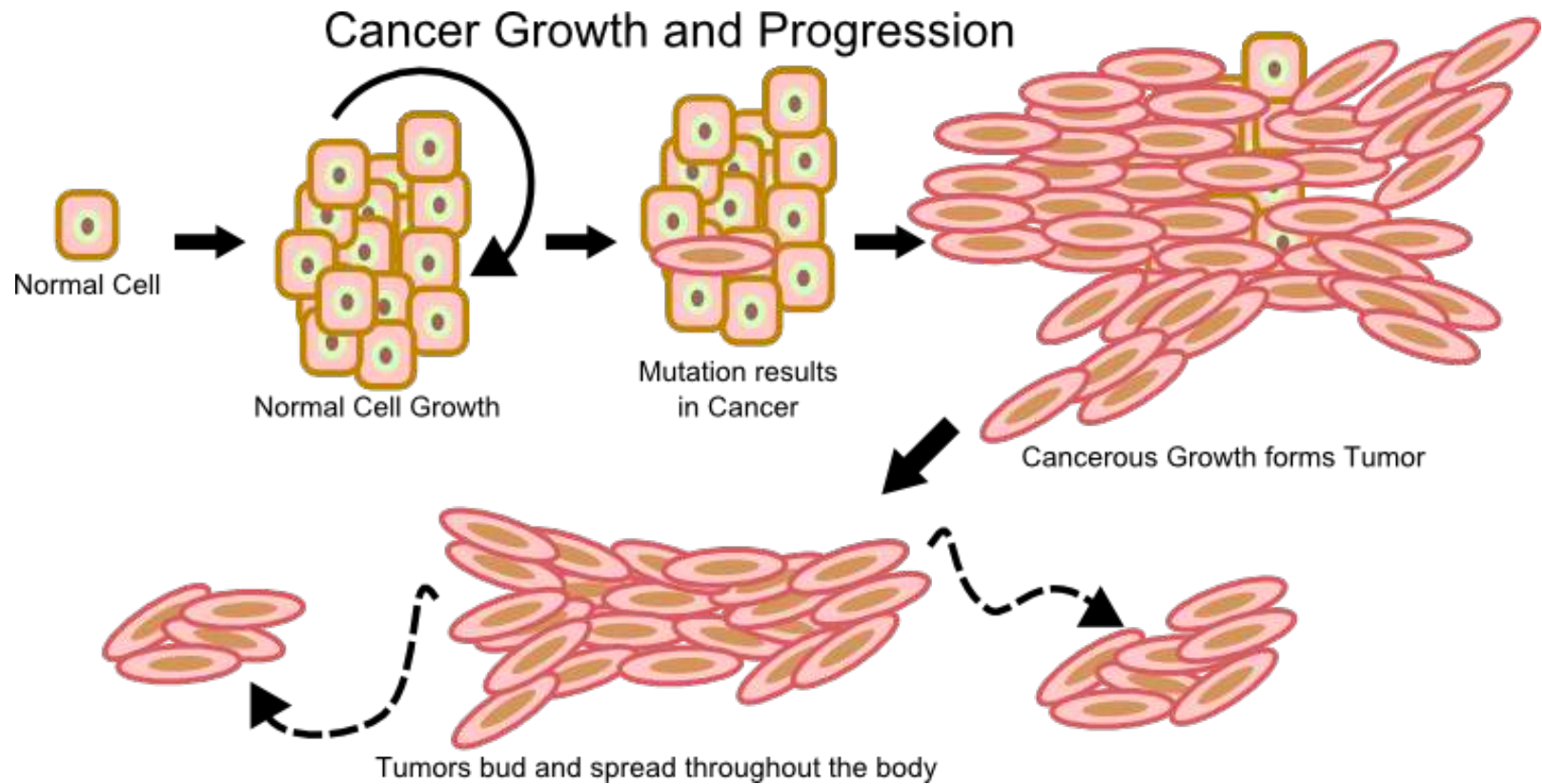


- Exempel: Albinos
 - Pigmenteringsgenen försvinner
 - melanin produceras inte





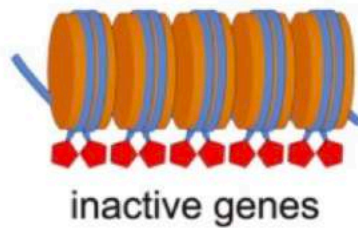
Cancer



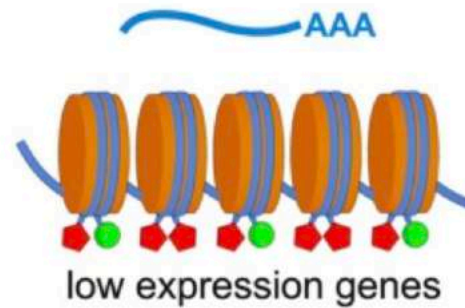
- Svårt hitta bra botemedel mot cancer
 - Genetiskt heterogent = Många olika celler muterade på många olika sätt
- Exempel på behandlingar
 - Kemoterapi: Dödar celler som förökar sig snabbt
 - Kirurgi: Man opererar bort cancercellerna (tumören)
 - Strålningsbehandling: Cancerceller kan ej reparera sig lika bra som friska celler → dör av strålningen
 - Immunoterapi: Aktivering av kroppens eget immunförsvar att döda cancercellerna
 - Skräddarsydd behandling: Angriper endast tumörceller



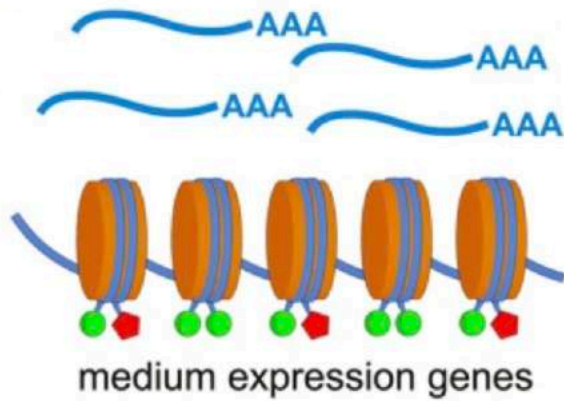
A



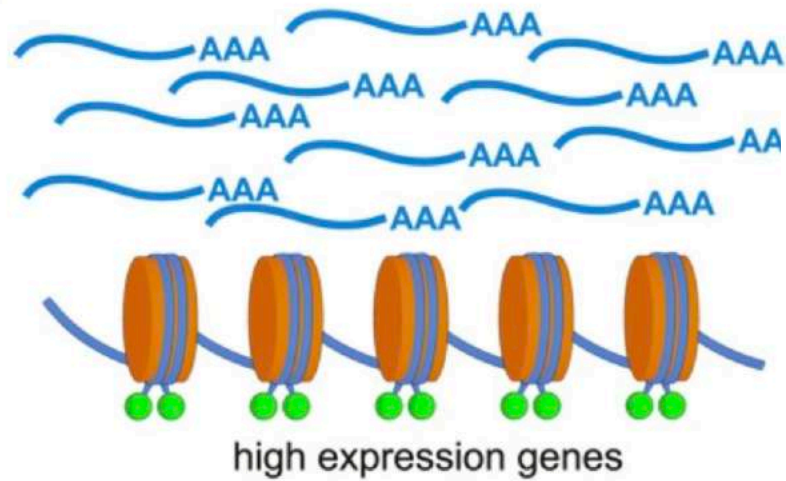
B

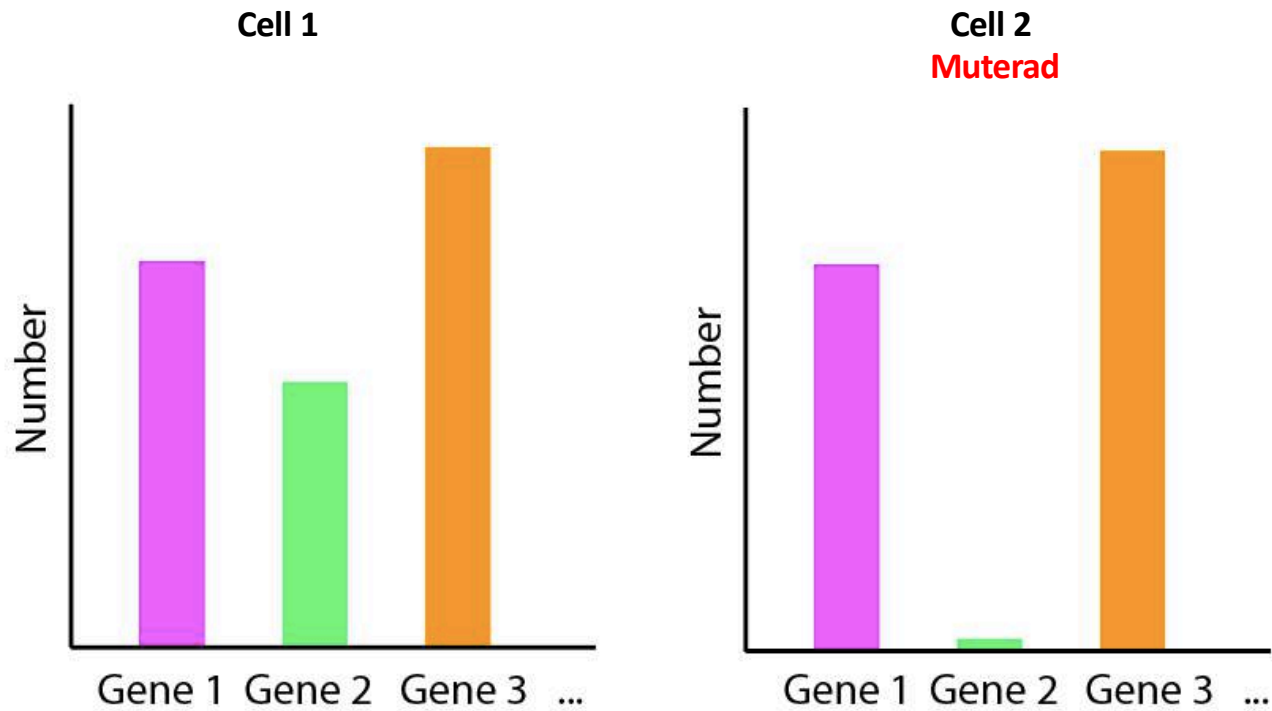


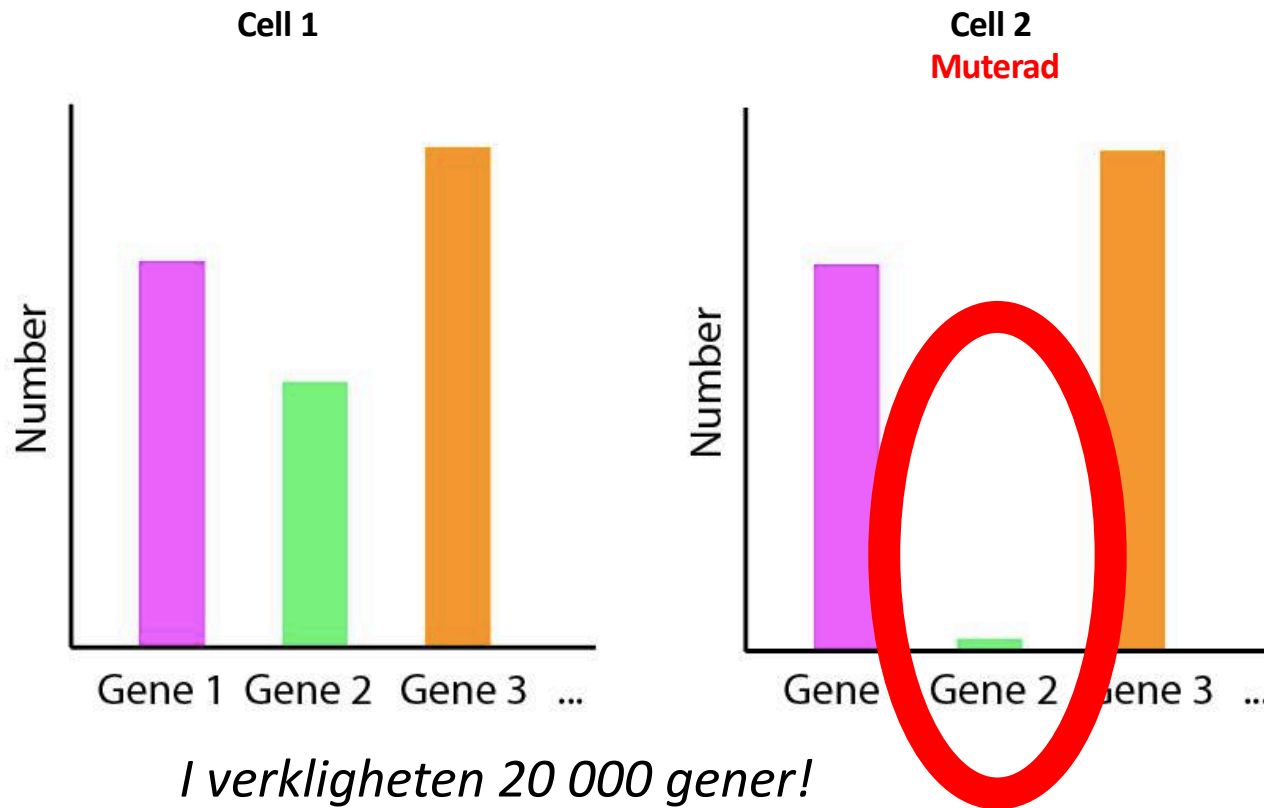
C



D

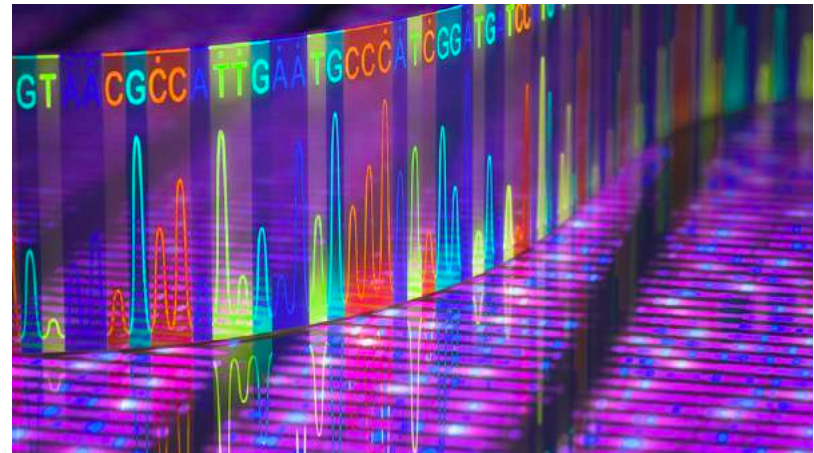




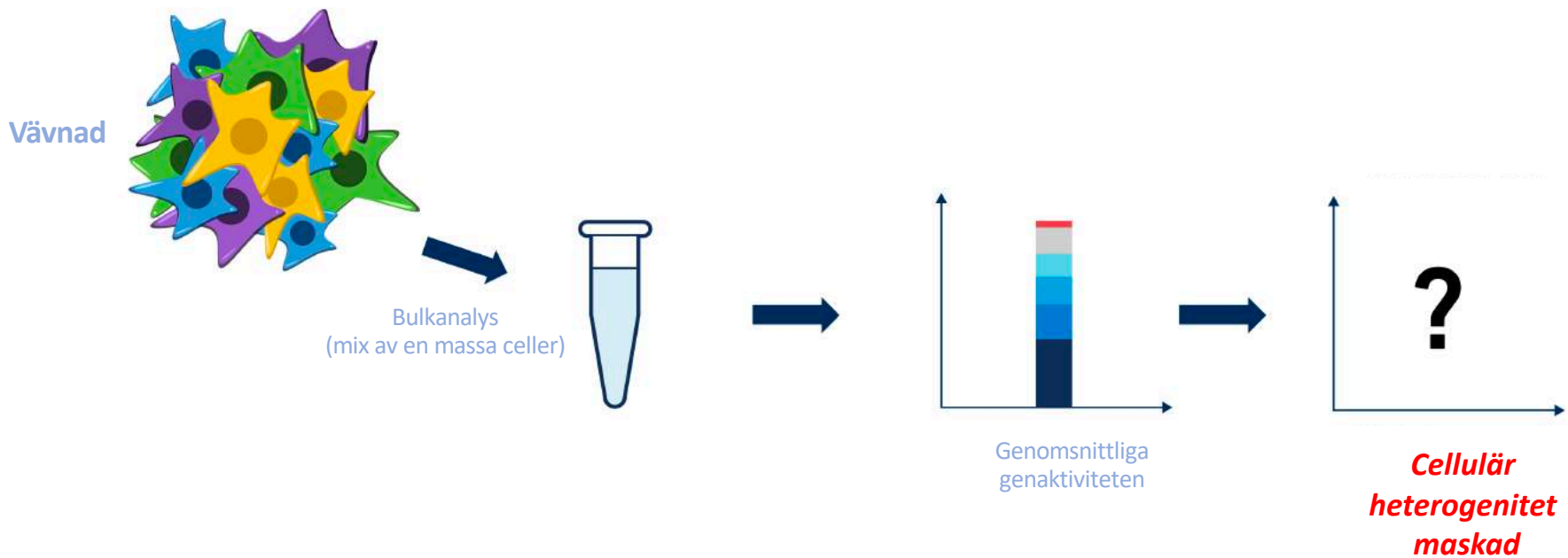




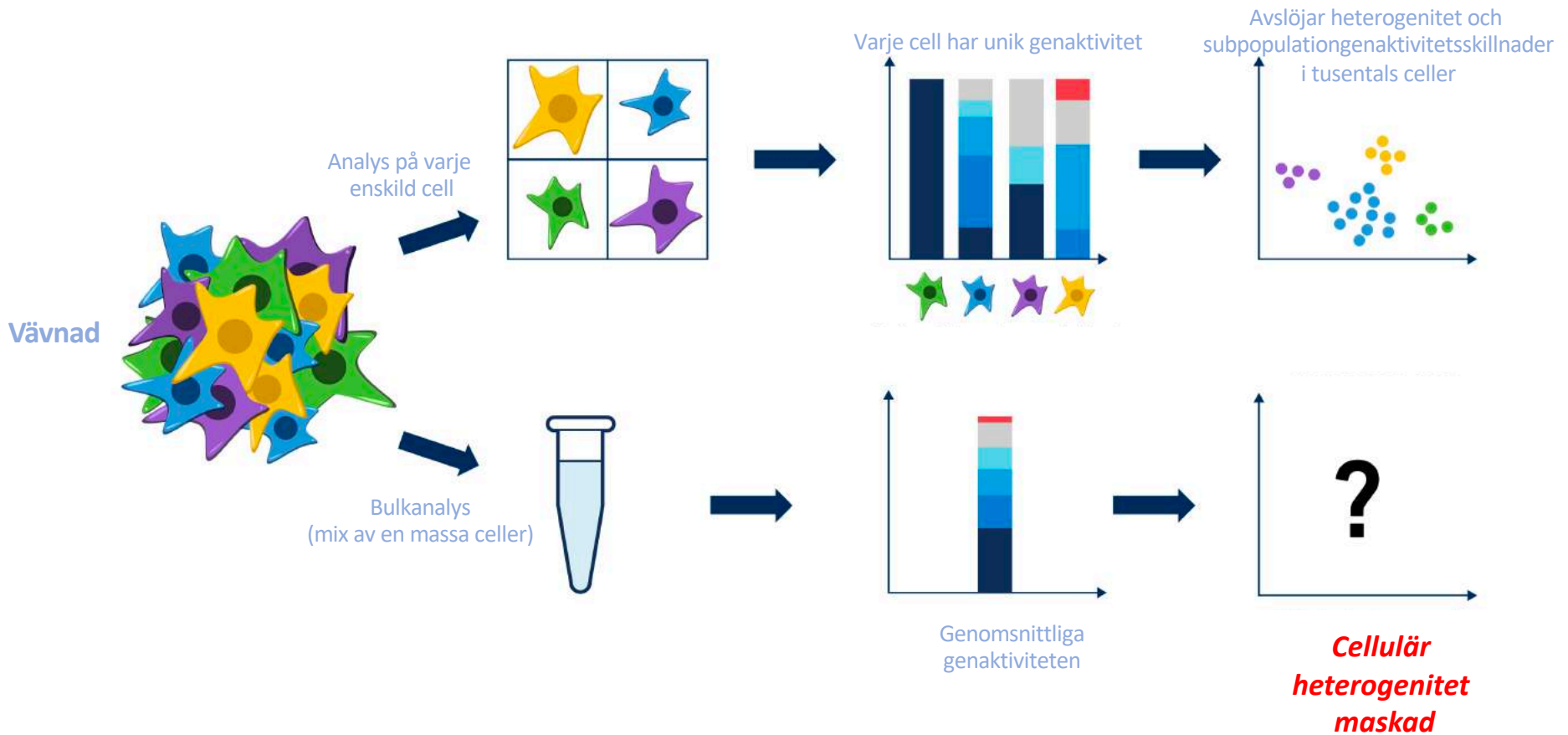
Sekvenseringsmaskin



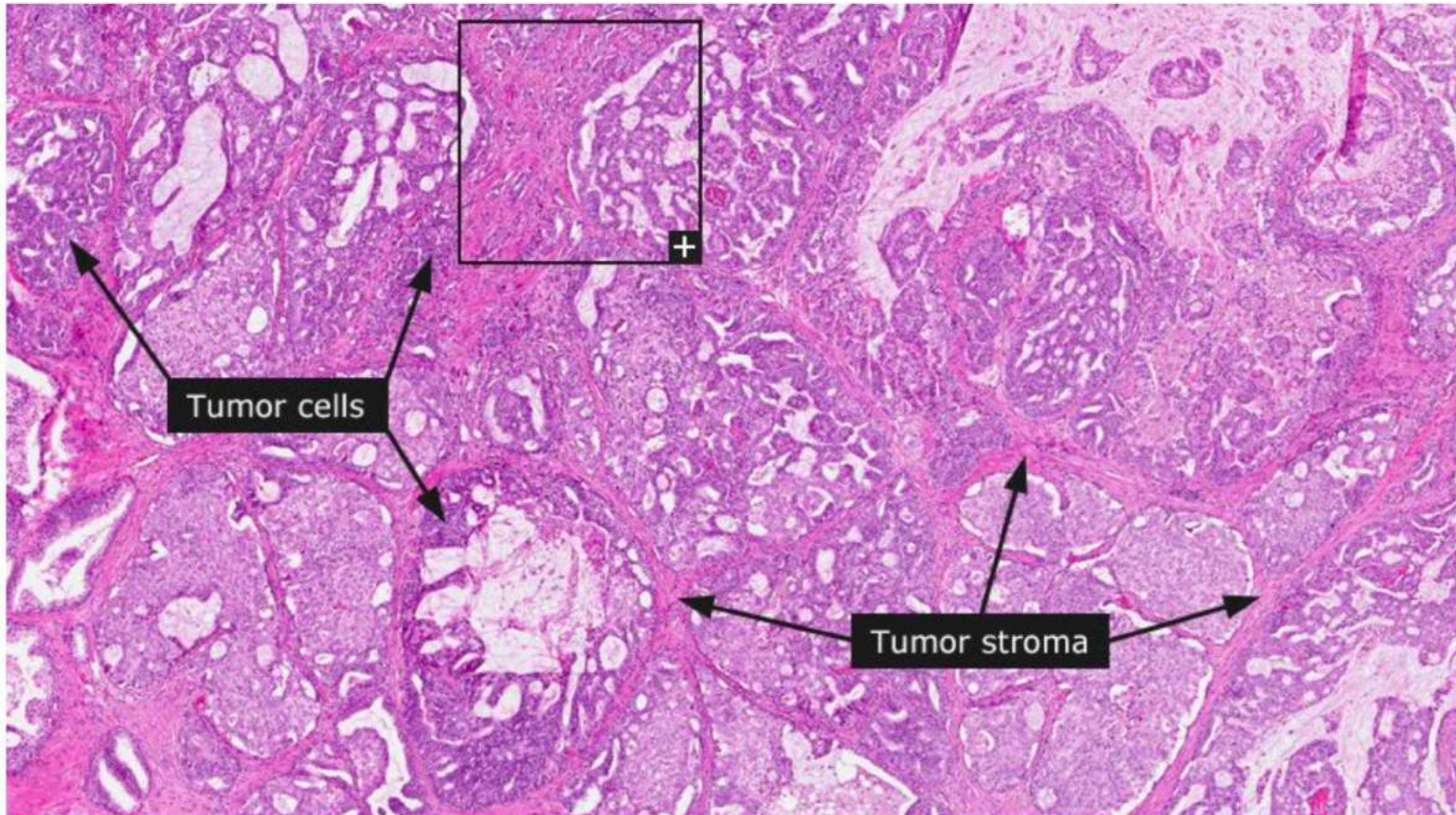
RNA-analys av vävnadsbit innehållandes miljontals olikaceller



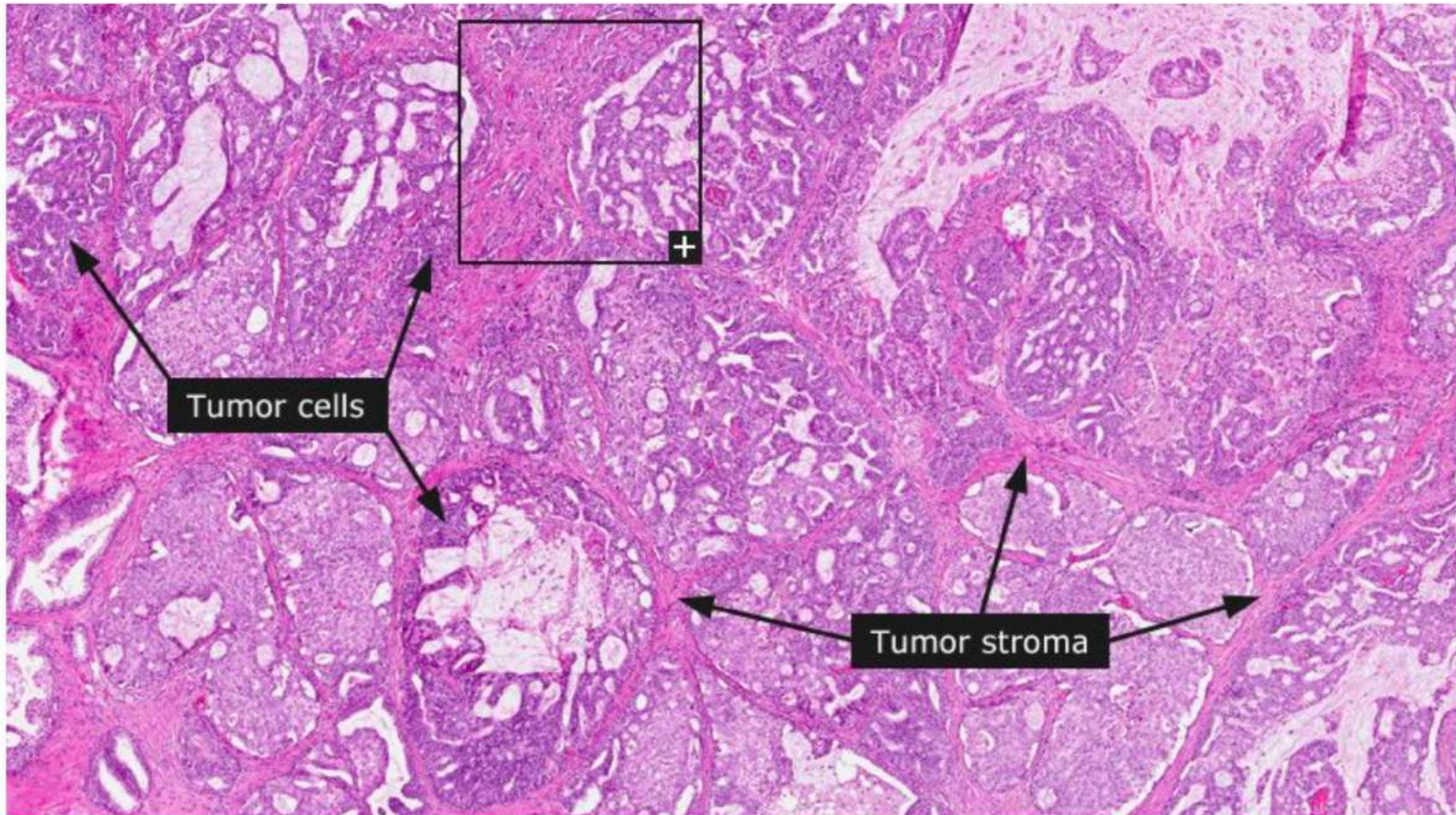
RNA-analys på enskilda celler är bättre



Lokalisering av celler är av betydelse



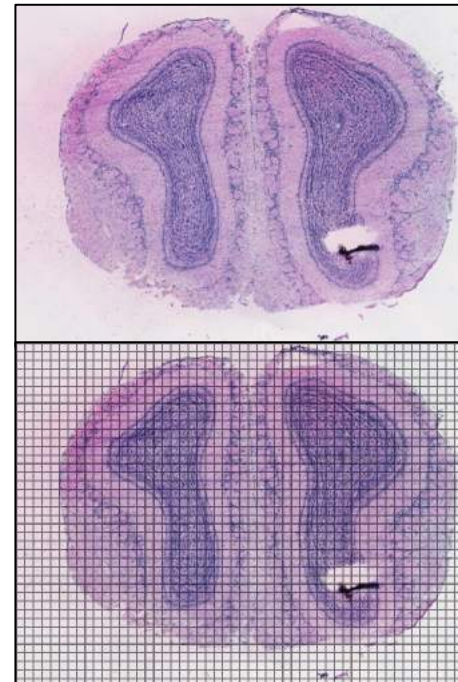
Lokalisering av celler är av betydelse



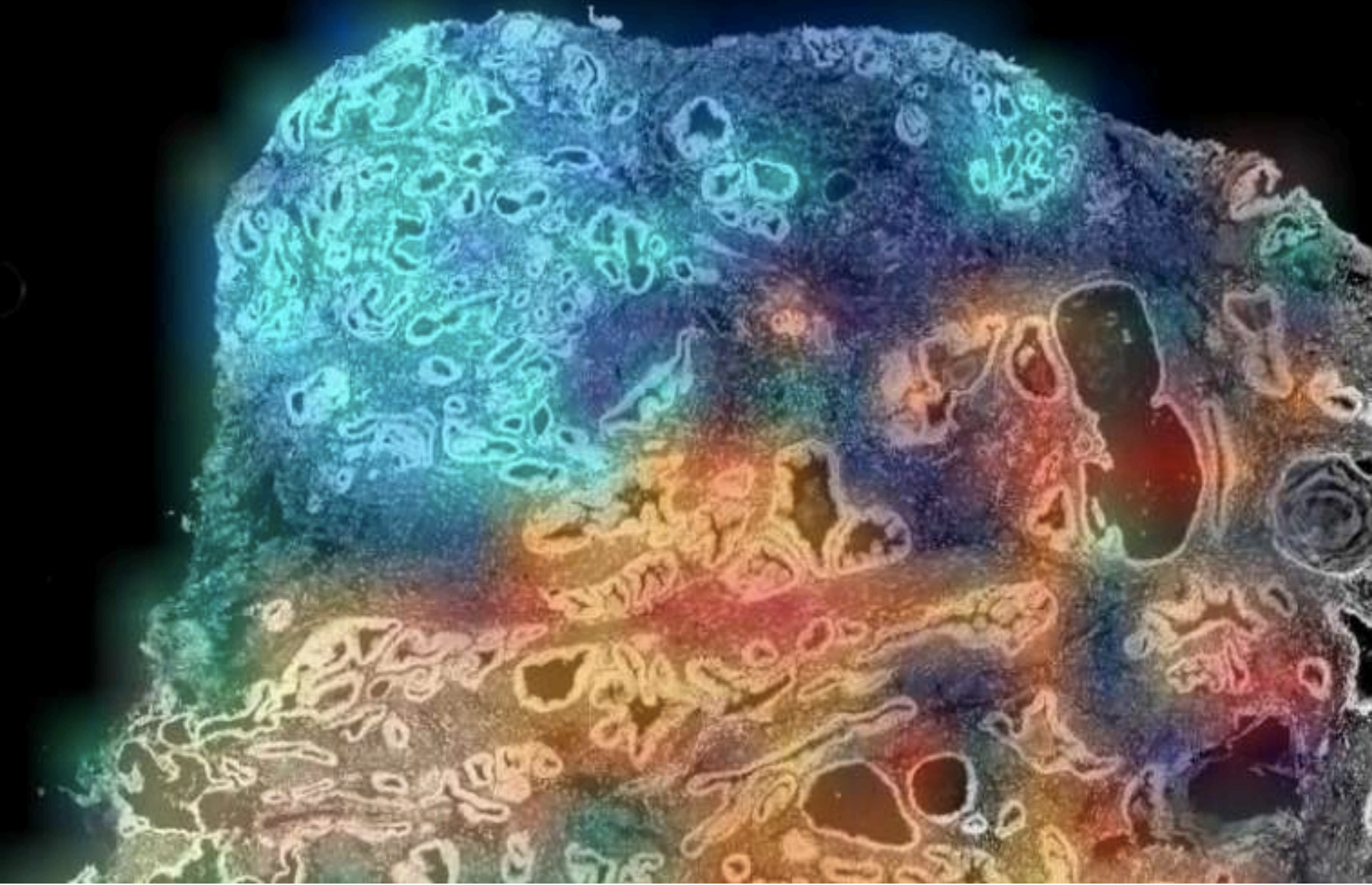
Behov: Koppla ihop histologi med genaktivitet

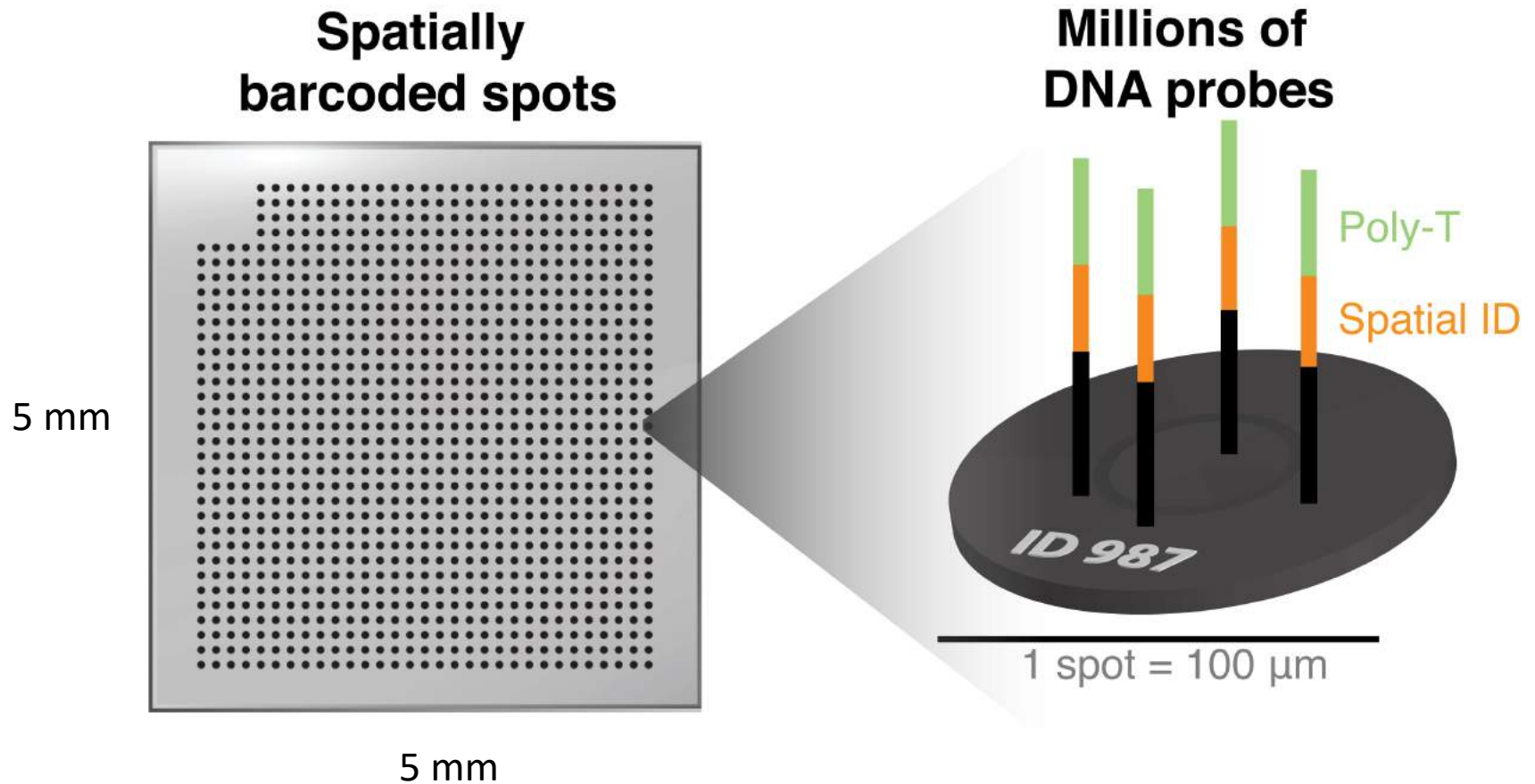
Spatial Transcriptomics

- Morfologisk information
- Genaktivitet
- Många regioner

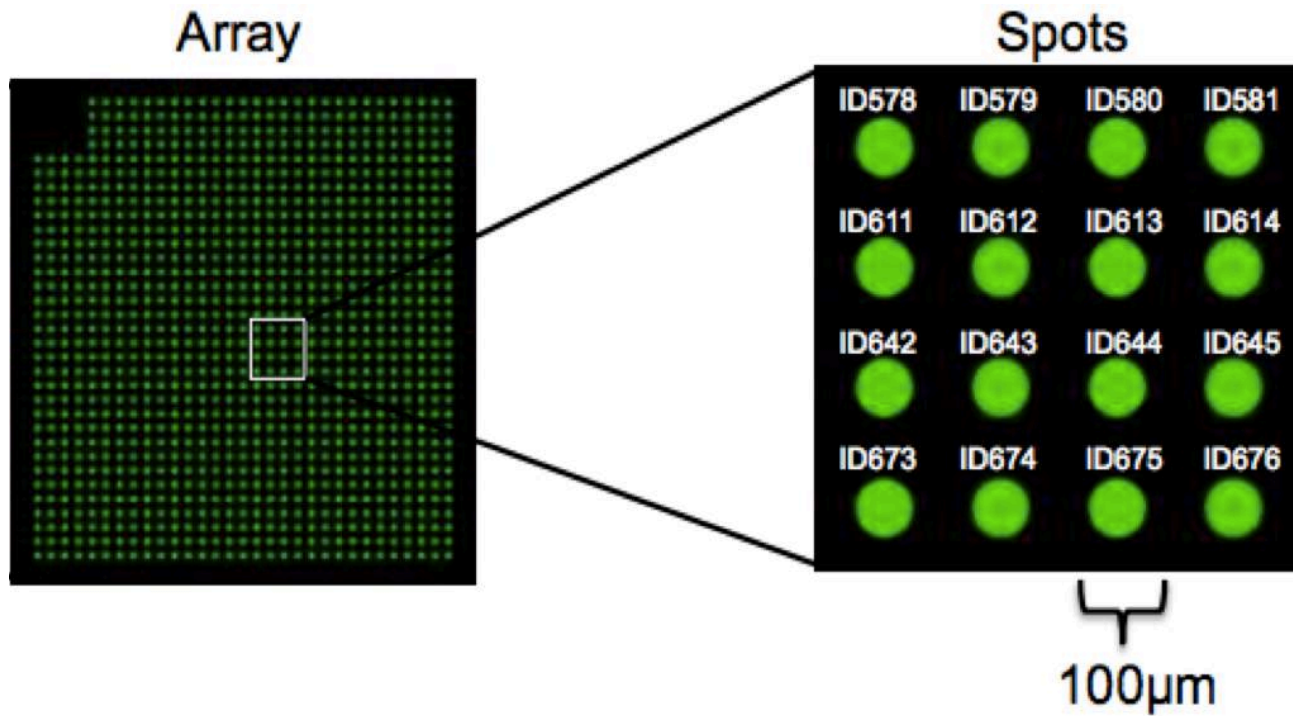


Metoden Spatial Transcriptomics

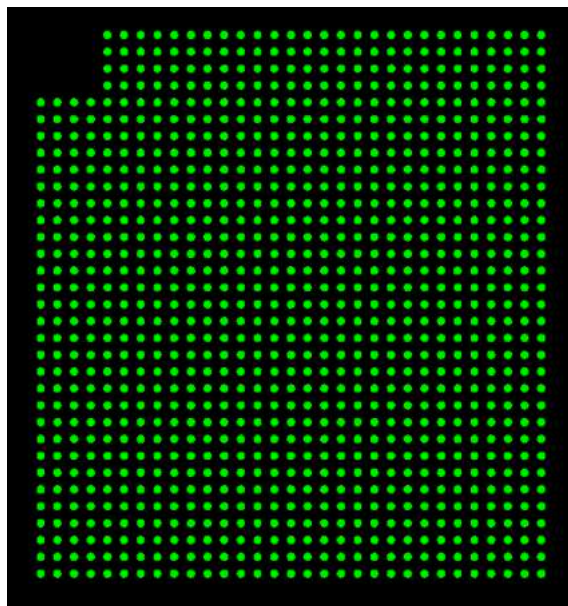




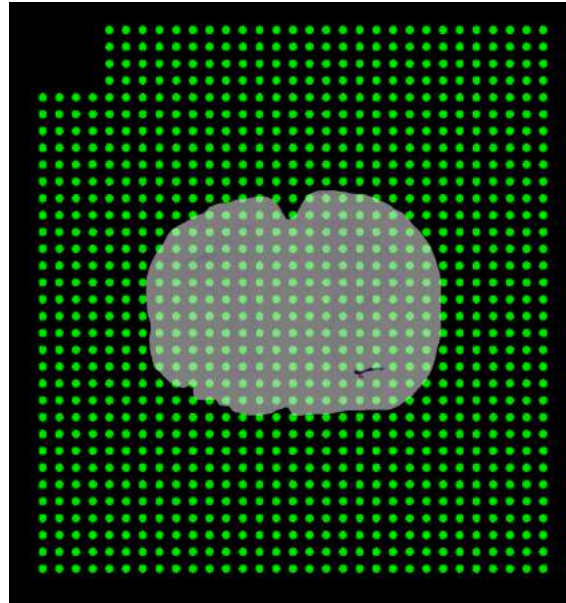
Protokollet



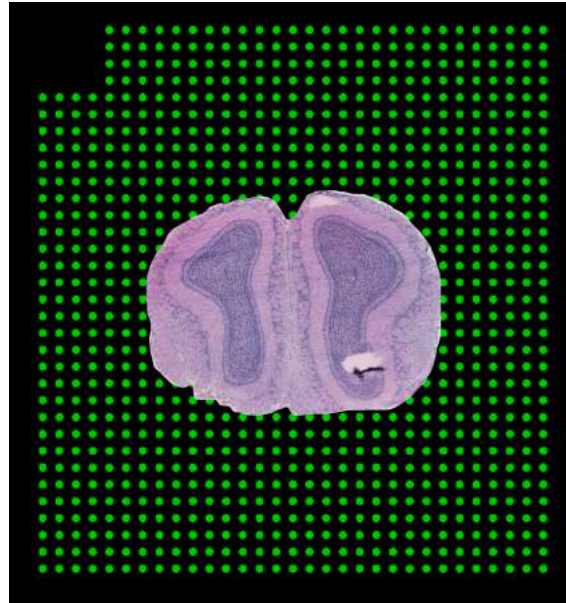
Protokollet



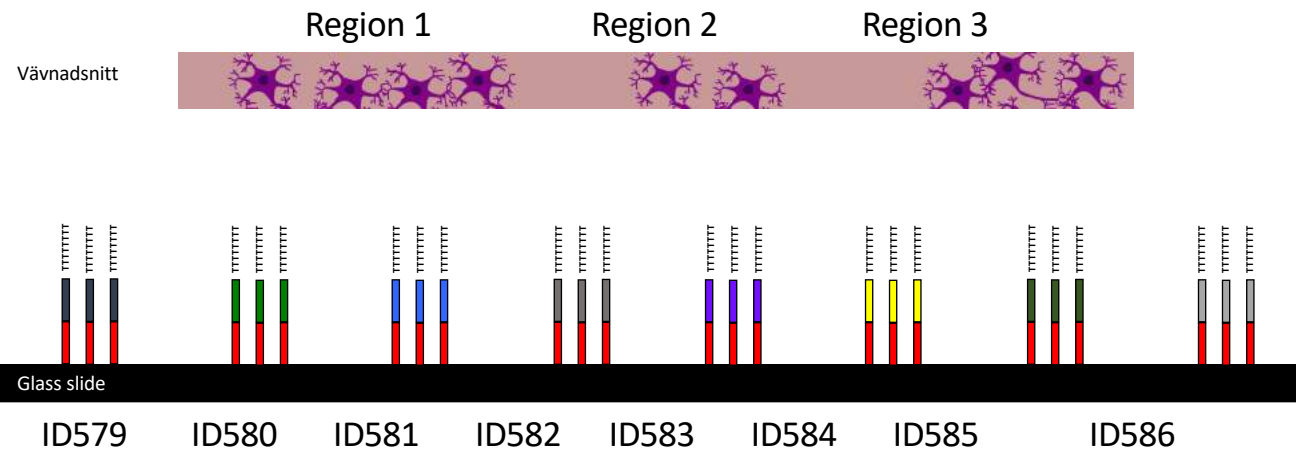
Lägga på vävnadsnitt



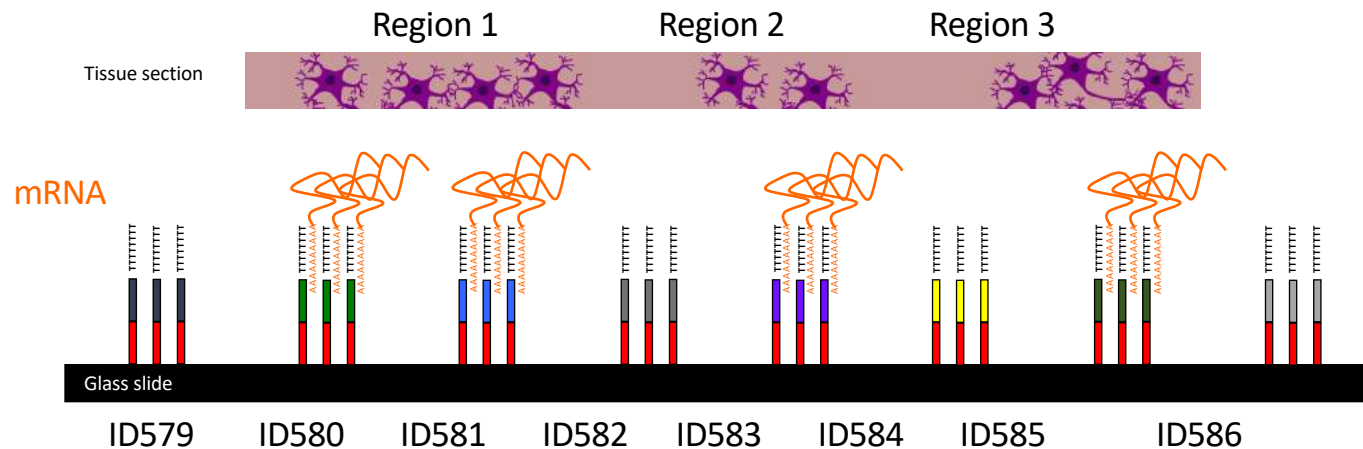
Färgning och mikroskåpbild



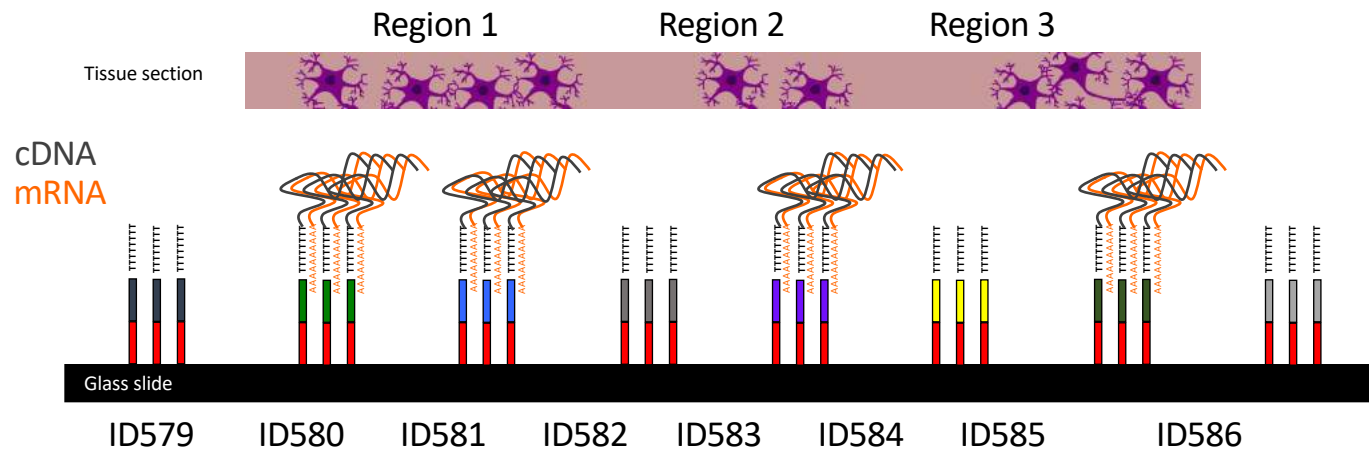
Färgning och mikroskåpbild



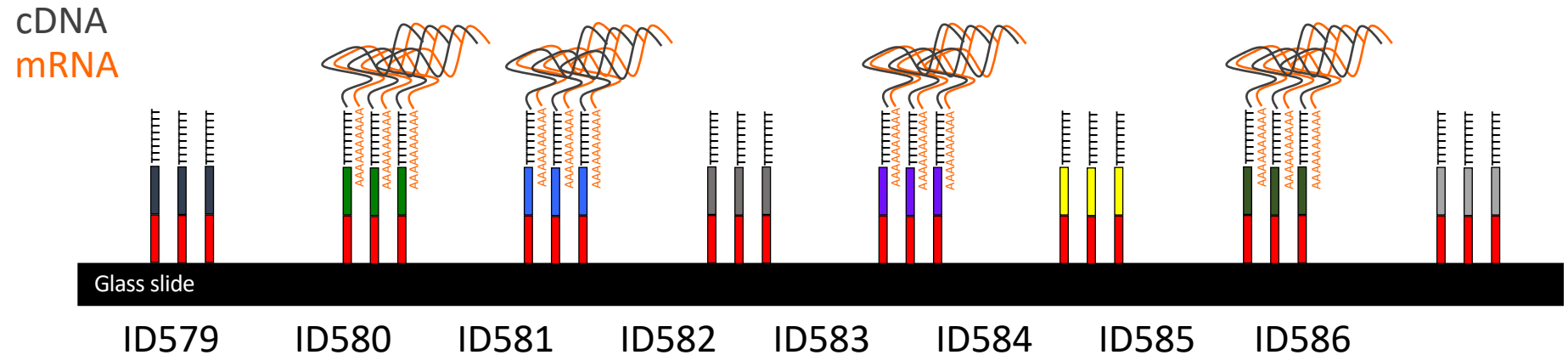
Skapa hål i cellerna (permeabilisering) → RNA-transkript läcker ut till underliggande spot



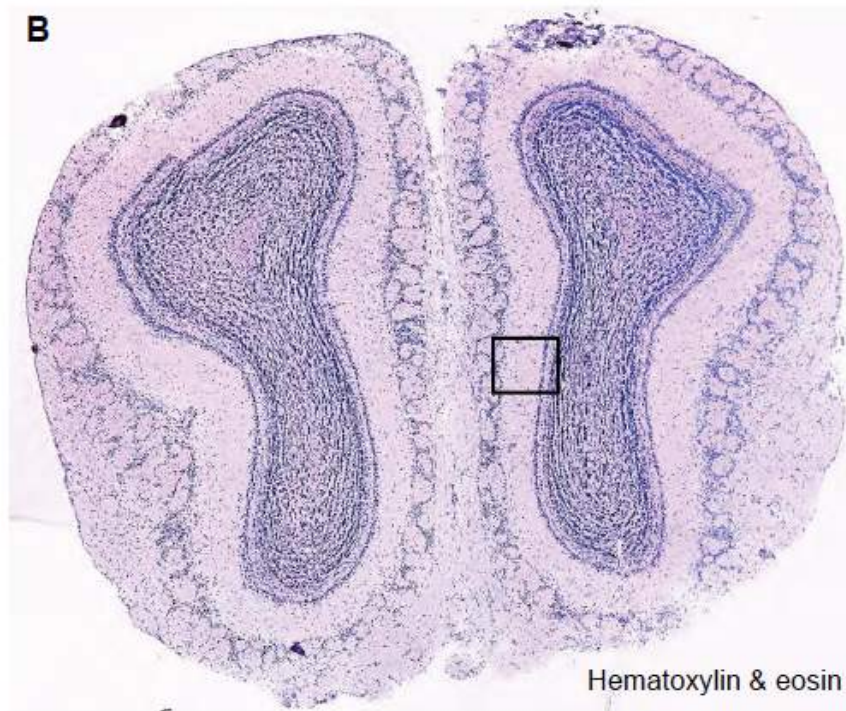
Kopierar RNA-molekyler som fastnar på ytan



Vävnadsborttagning



Hematoxylin och eosin
(H&E-färgning)

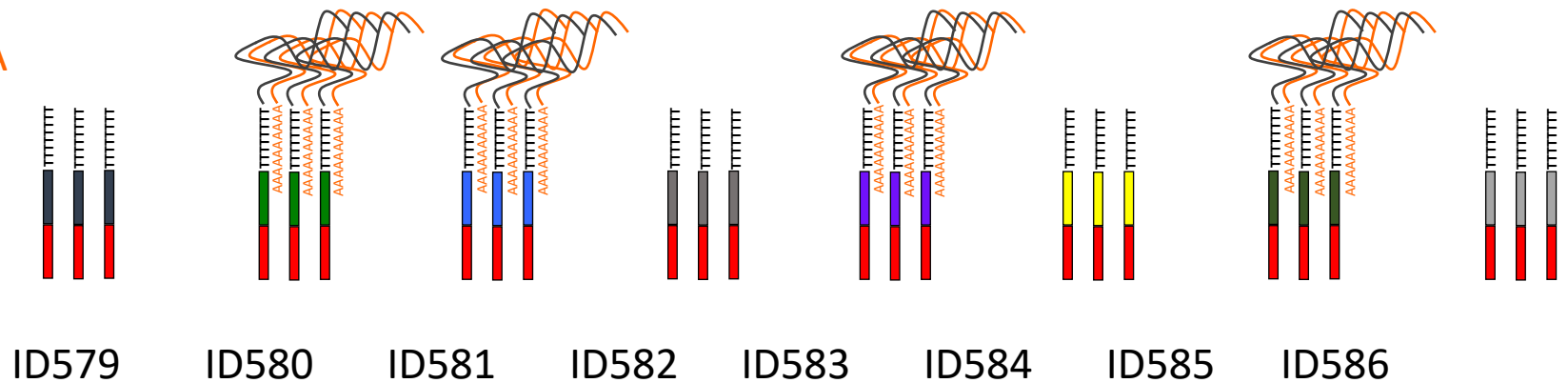


Flourescerande RNA-molekyler
som fångats på arrayen

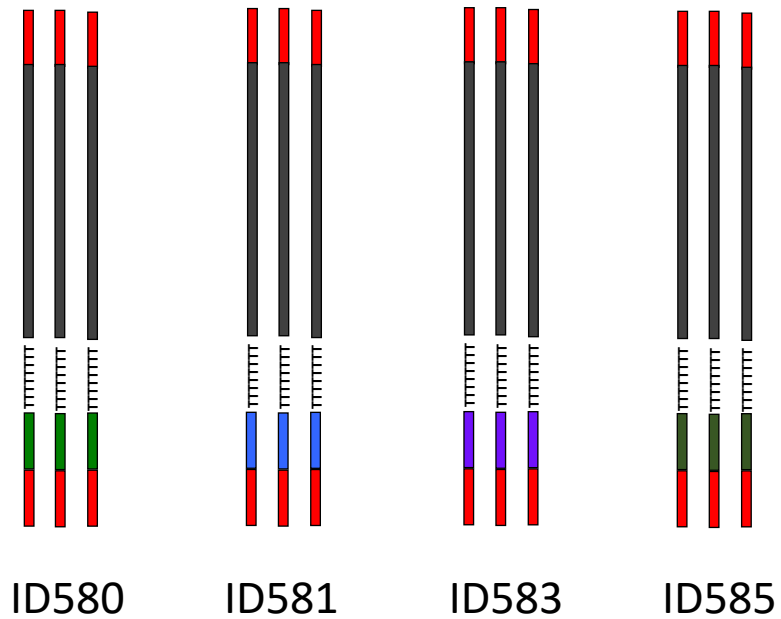


Release from surface

cDNA
mRNA



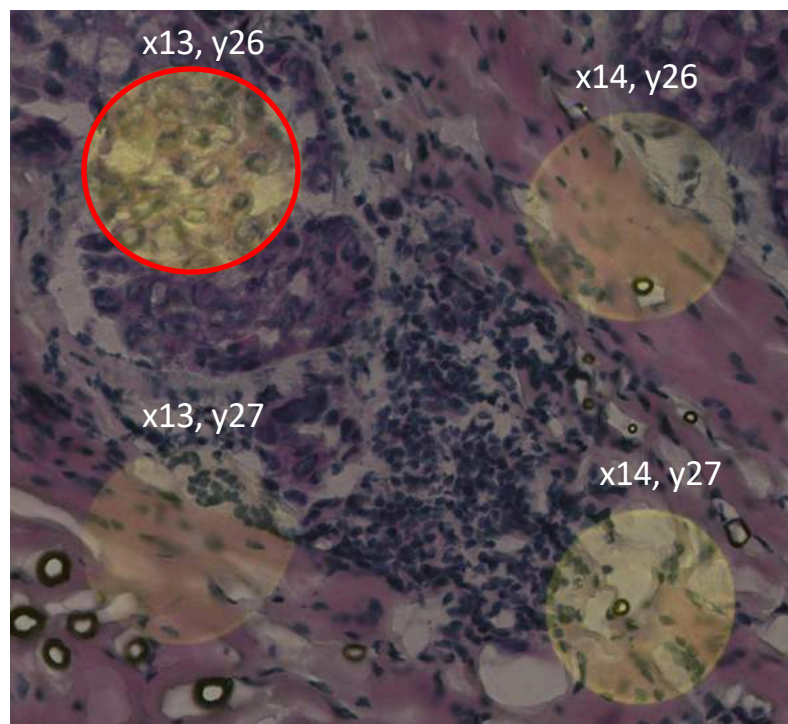
Sekvensering



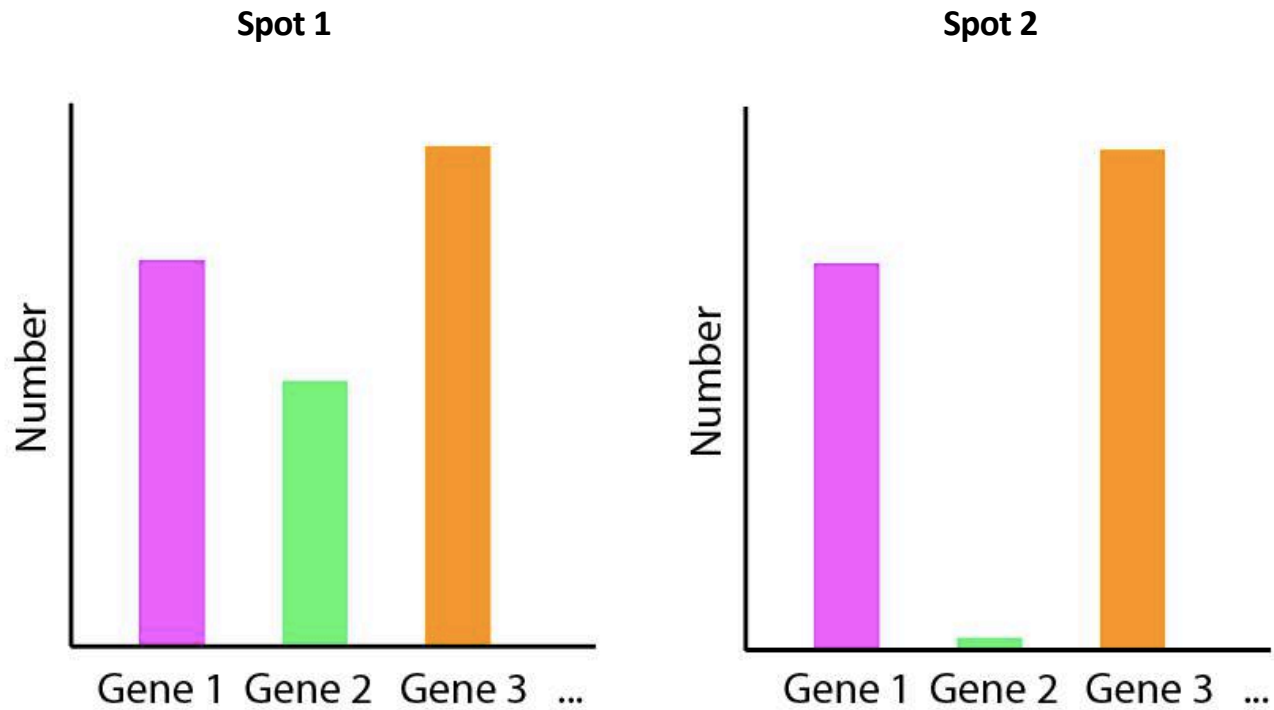
Data analysis and visualization

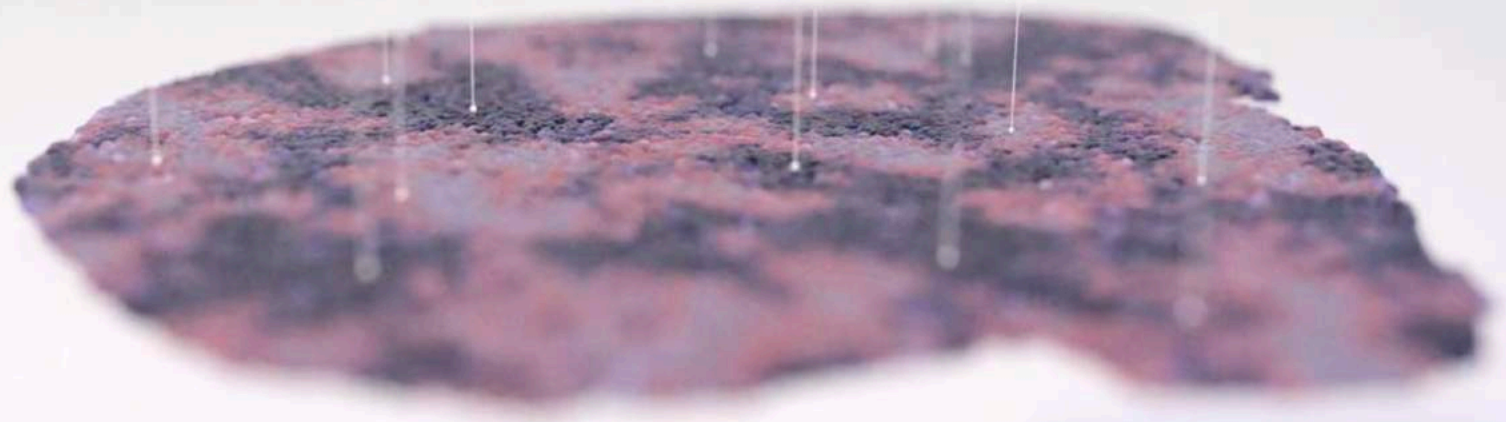
barcode	gene	counts	x-coordinate	y-coordinate
ACTTGCGTTCCGAATGCTA	ACTG	403	13	26
ACTTGCGTTCCGAATGCTA	ERBB2	229	13	26
ACTTGCGTTCCGAATGCTA	PGR	10	13	26
ACTTGCGTTCCGAATGCTA	ACTG	2	13	26

Dataanalys och visualisering

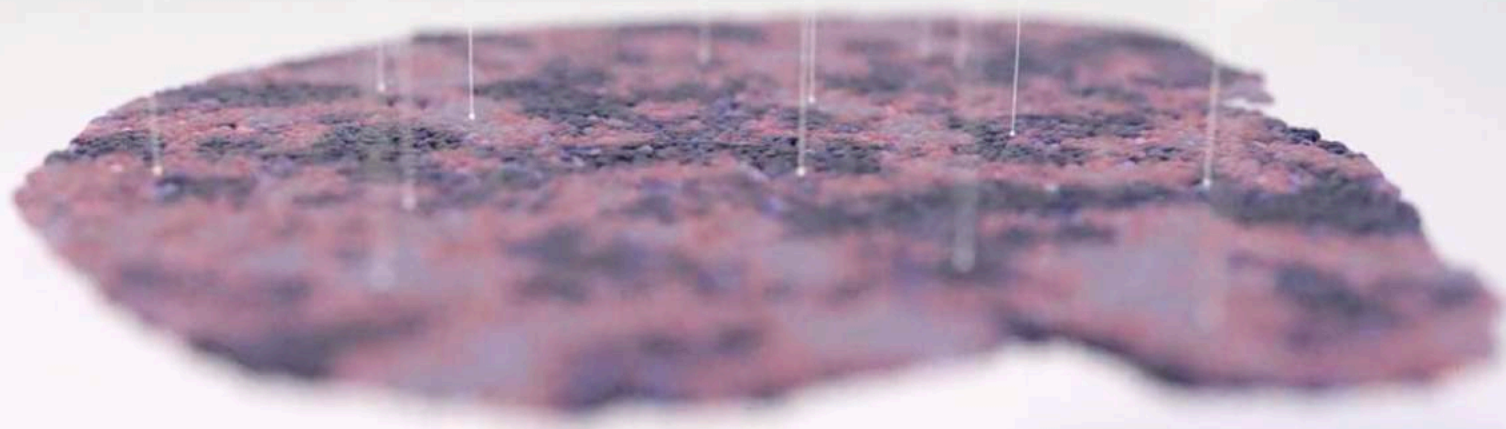


Genprofiler

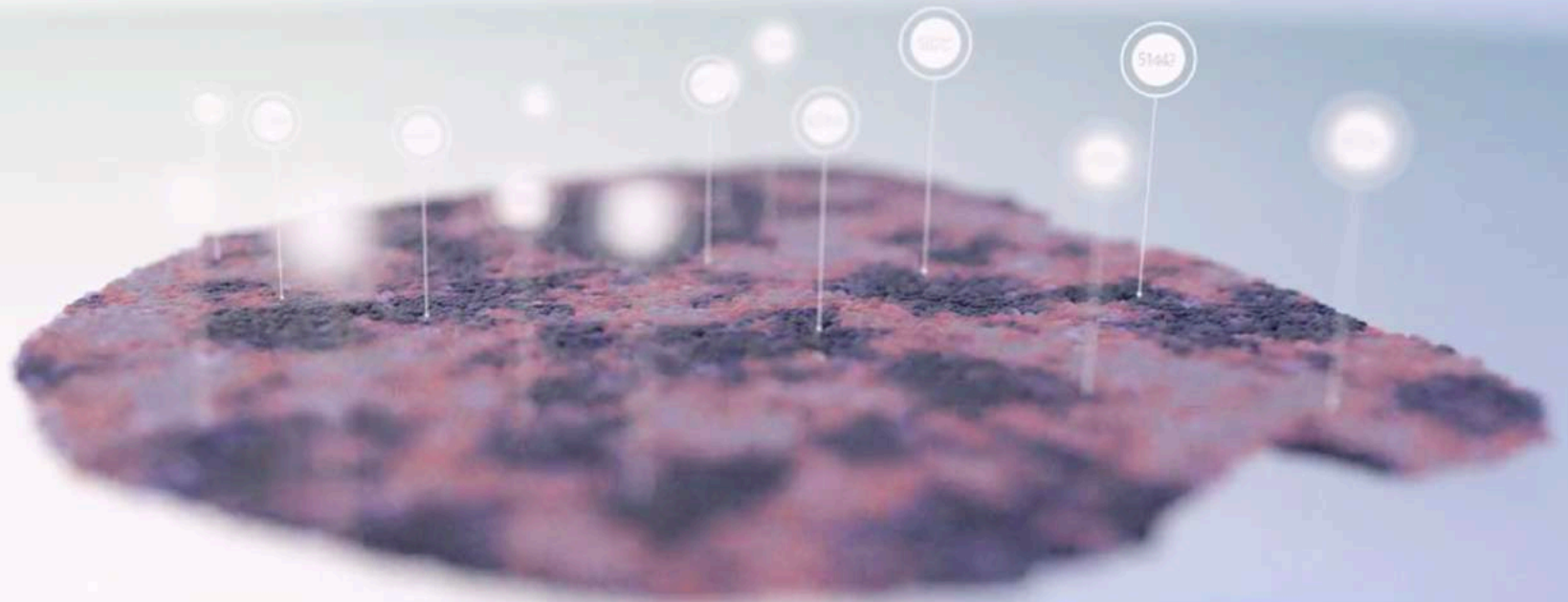




GENE GBP2



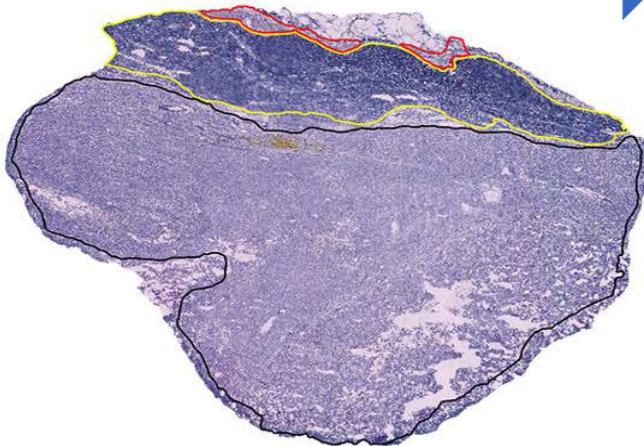
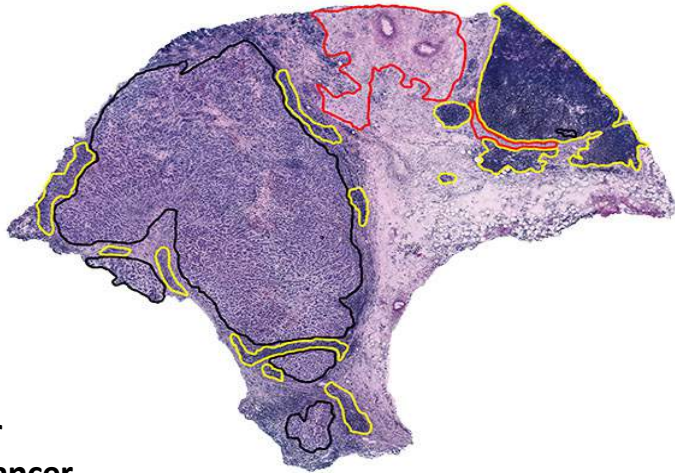
GENE ACTL8



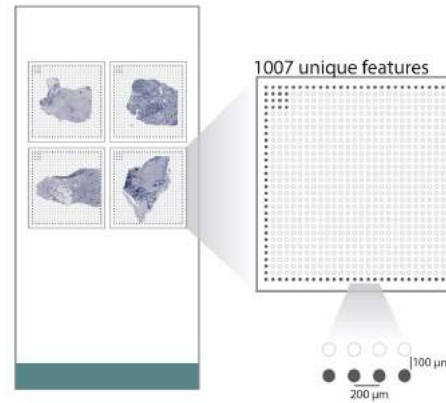
GENE VPS13D

Hudcancer

Patolog har
markerat cancer
(svart cirkel)



Melanoma (black),
Stroma (red)
Lymphoid tissue (yellow)

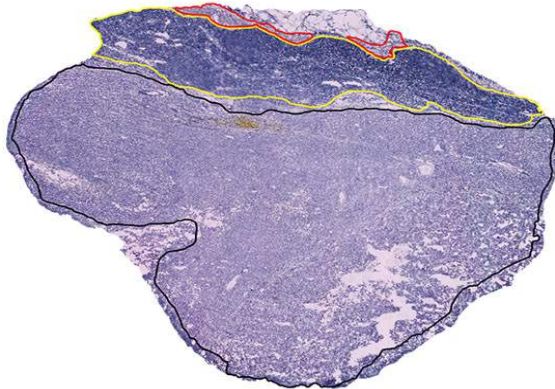
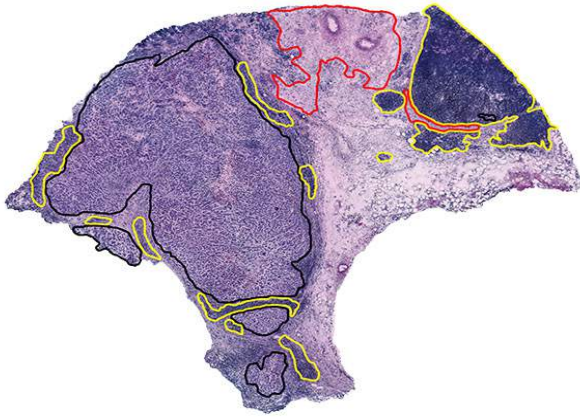


Dataanalys

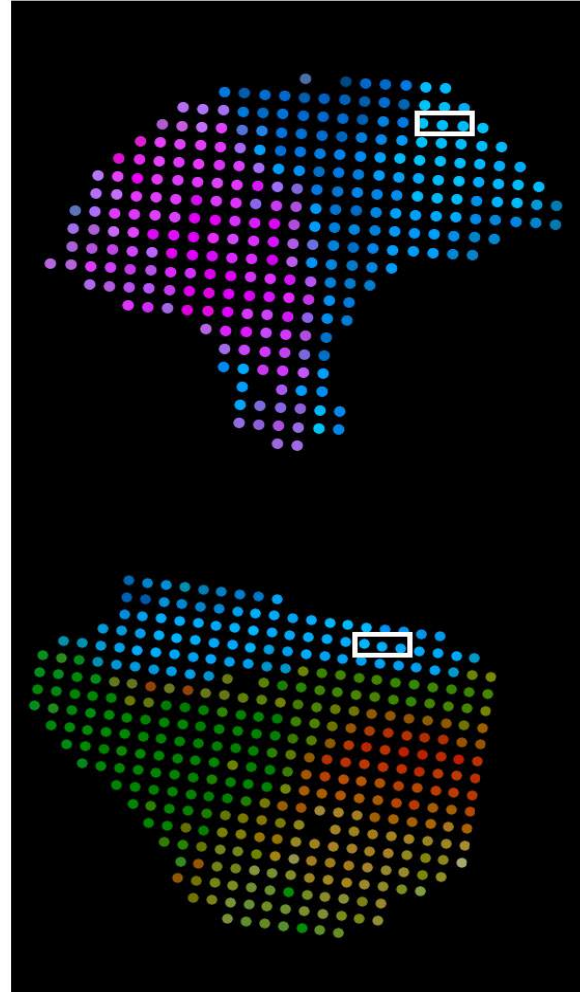


Heterogeneity – melanoma lymph node metastasis

Patolog har
markerat cancer
(svart cirkel)

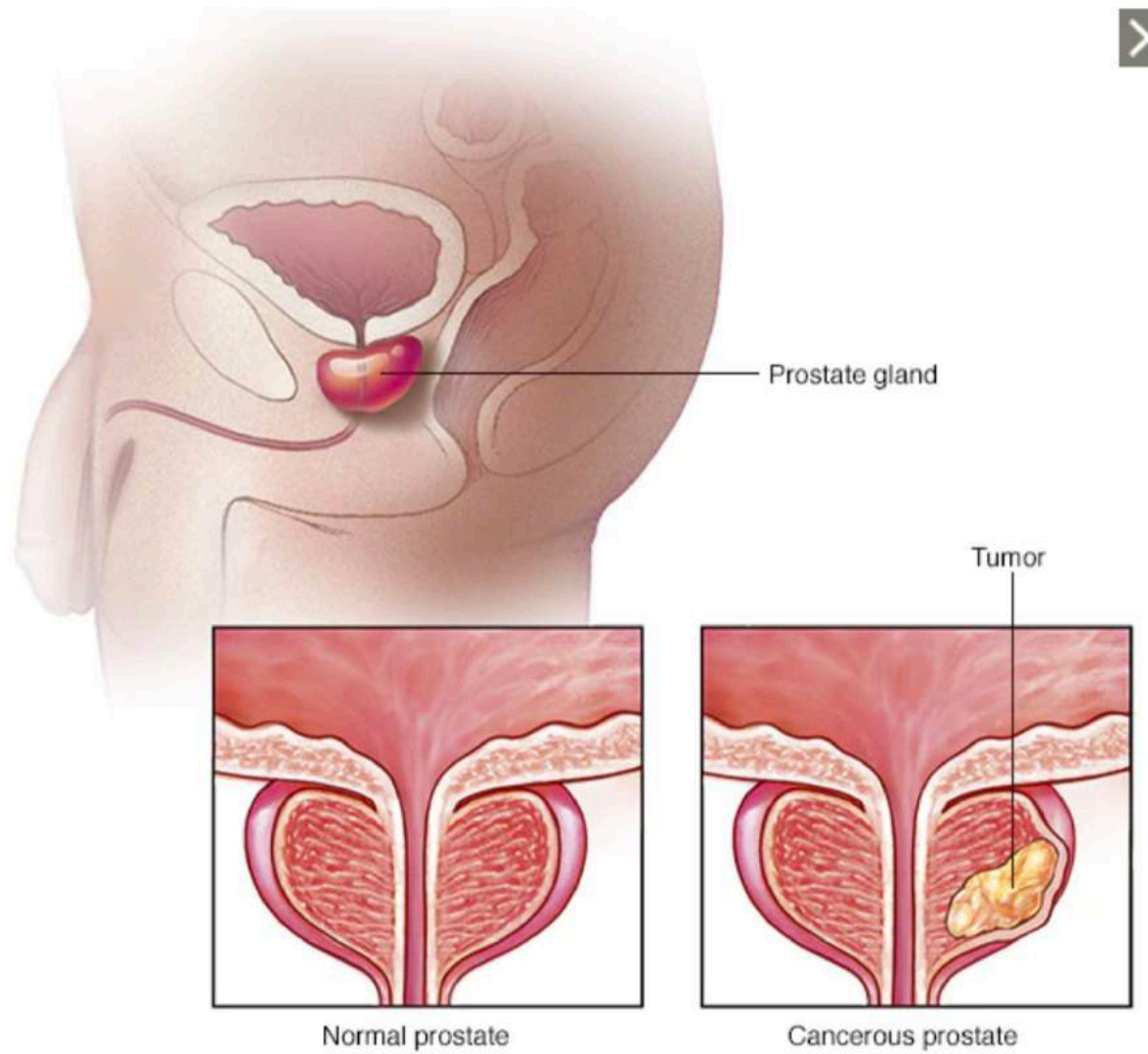


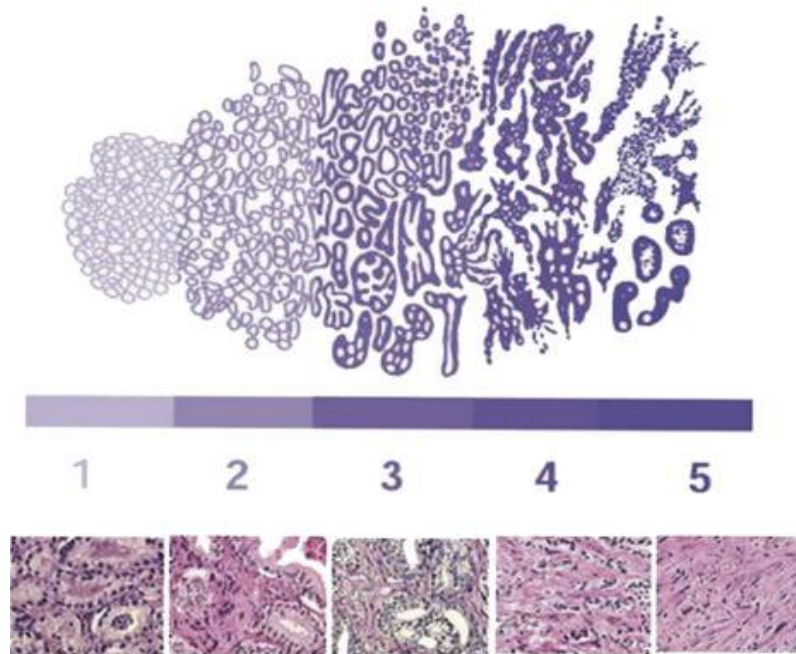
Melanoma (black),
Stroma (red)
Lymphoid tissue (yellow)

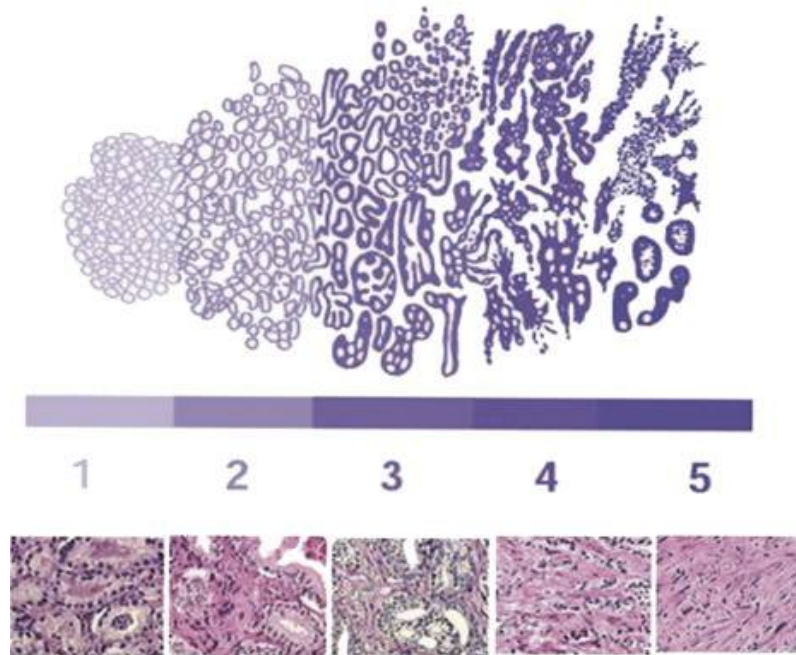


Varje färg = liknande genaktivitet

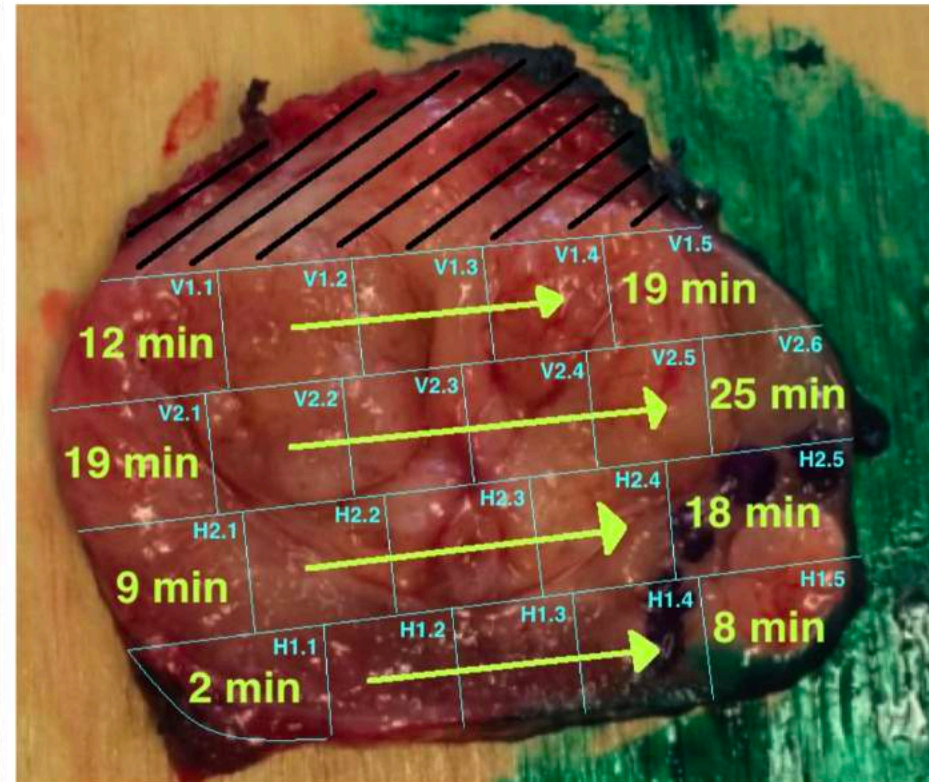
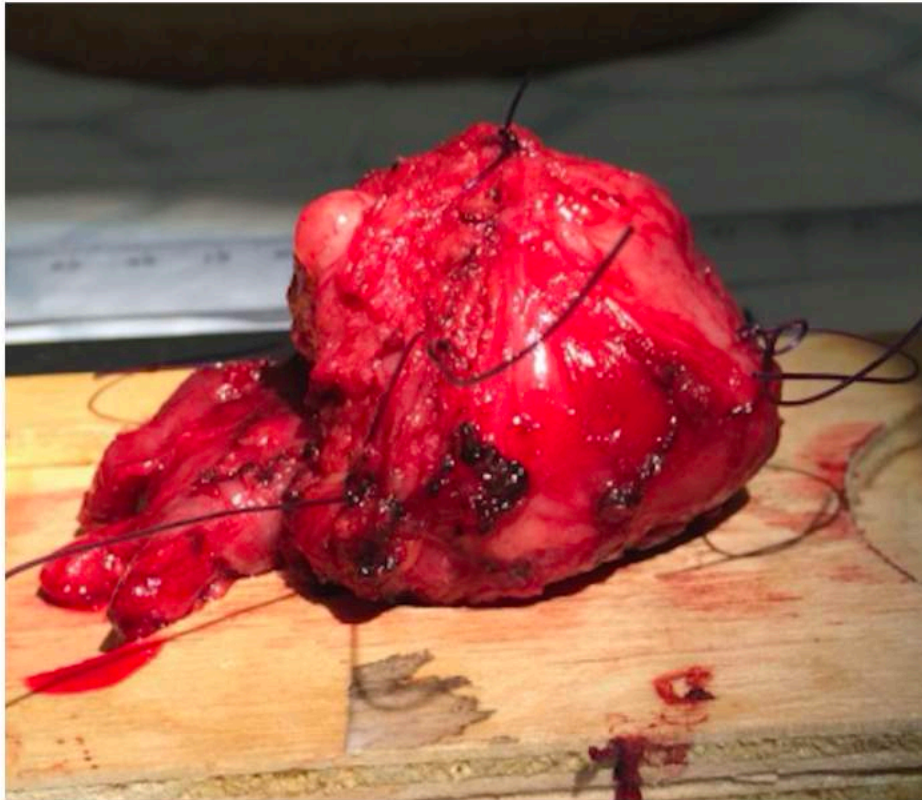
Data analys
ger RNA-baserad
annotering







Rätt prognos av prostatacancer svår!



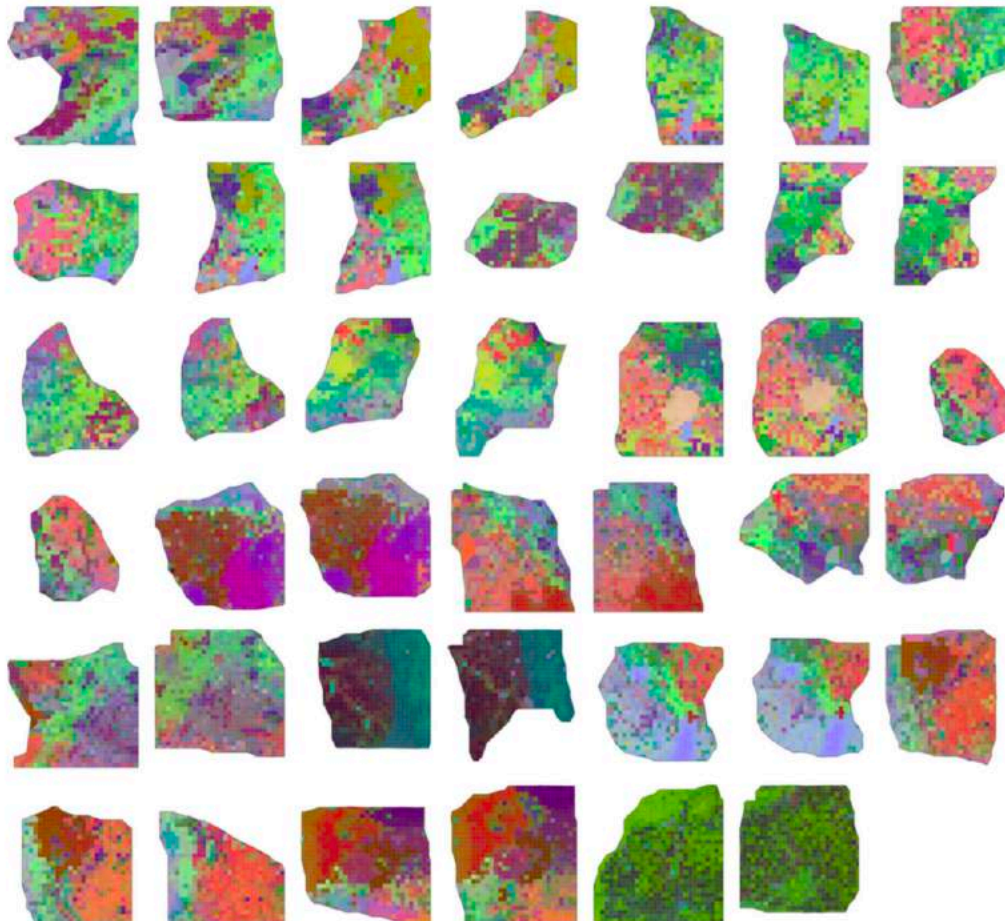
Patient 2

Firas skär i prostatan
för att ge ett tvärsnitt
på 5 mm till forskningen!



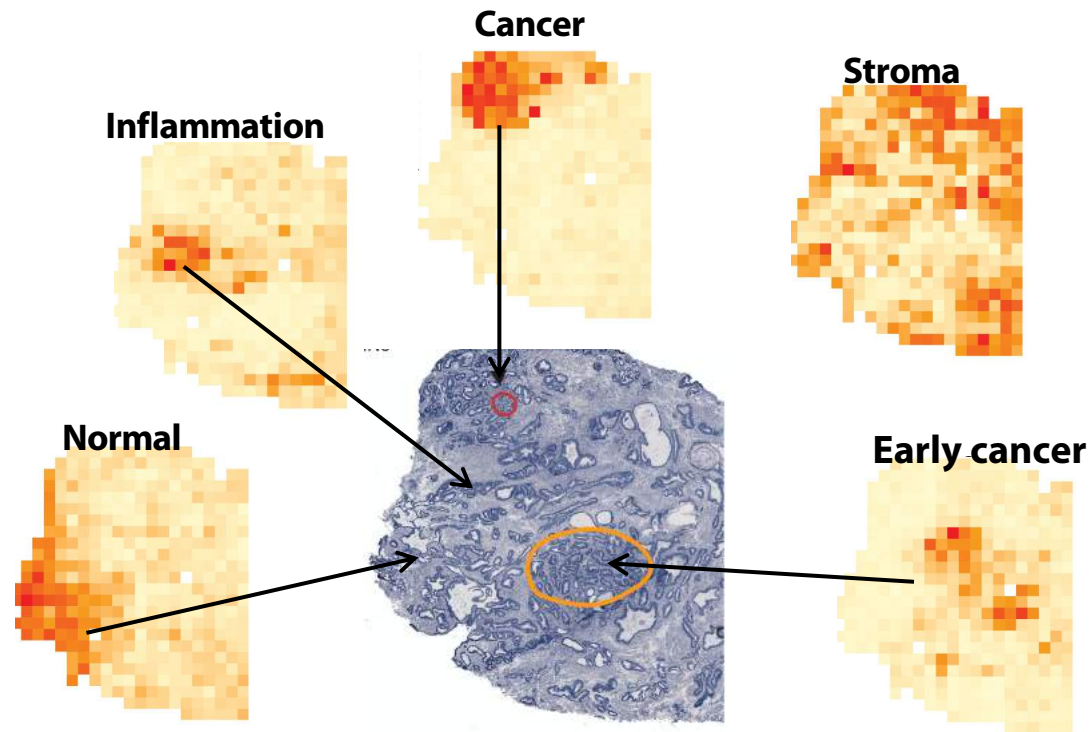
Patient 2



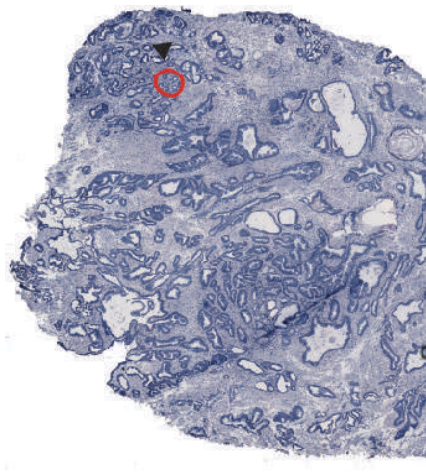


7
cancer clones

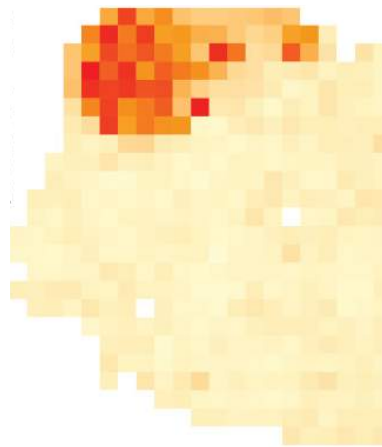
≈20 000 tissue regions



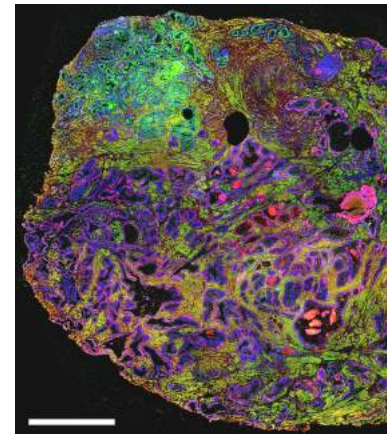
Klassificera olika vävnadskomponenter (stroma, immunceller, PIN3, cancer) till genuttrycksprofiler



Annotering av patolog



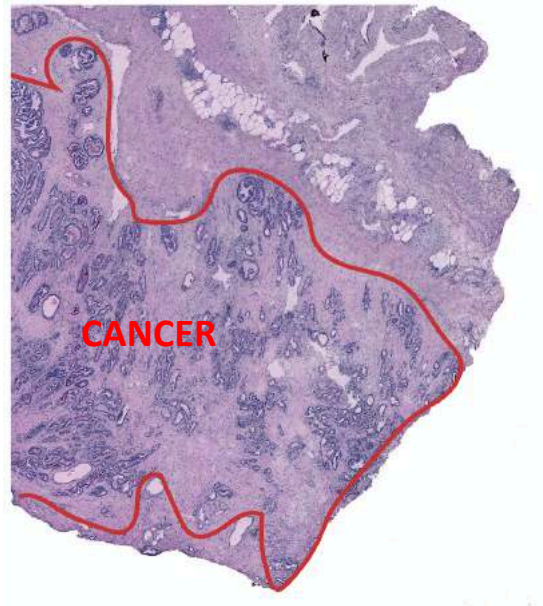
**Datadriven
annotering**



Immunohistokemi

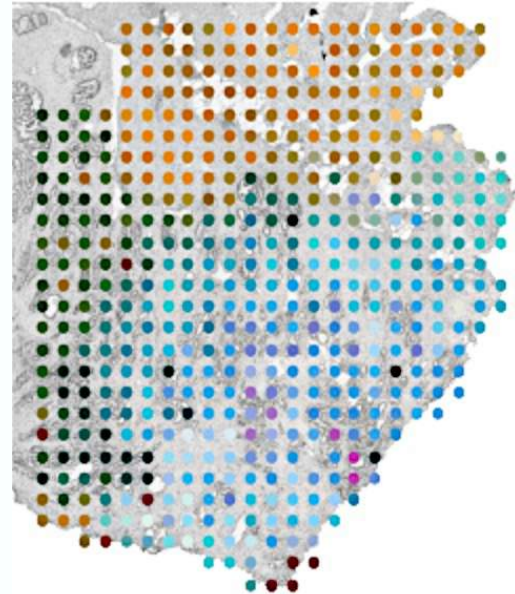
Molekylära förändringar sker innan ändring av histologisk fenotyp

1 region

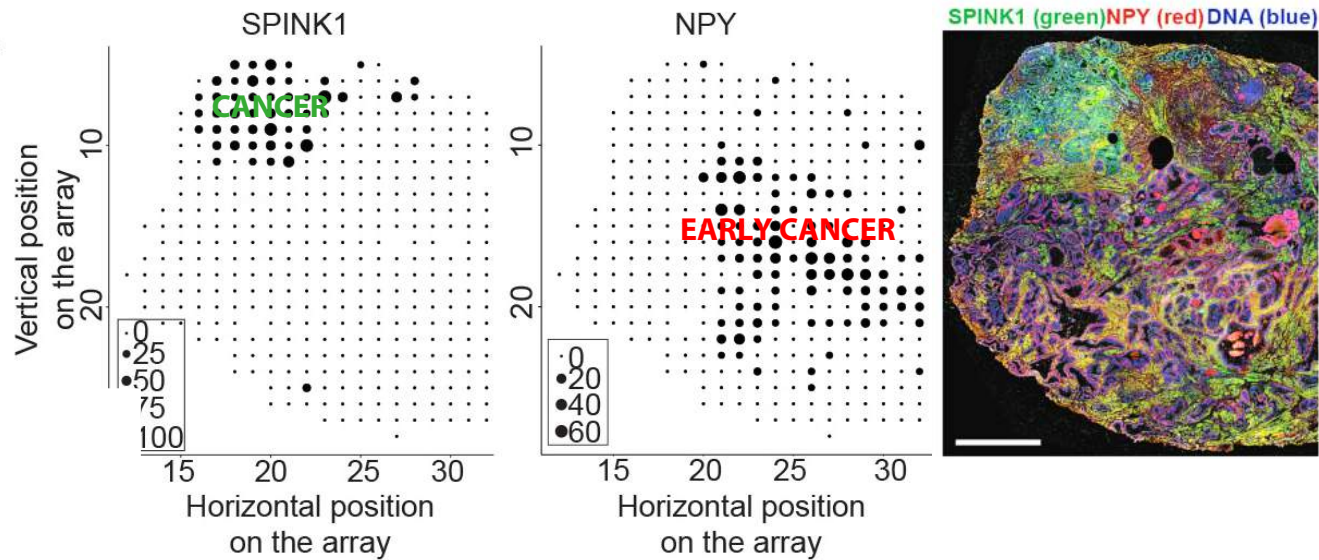


Annotering av patolog

Fler regioner identifierade

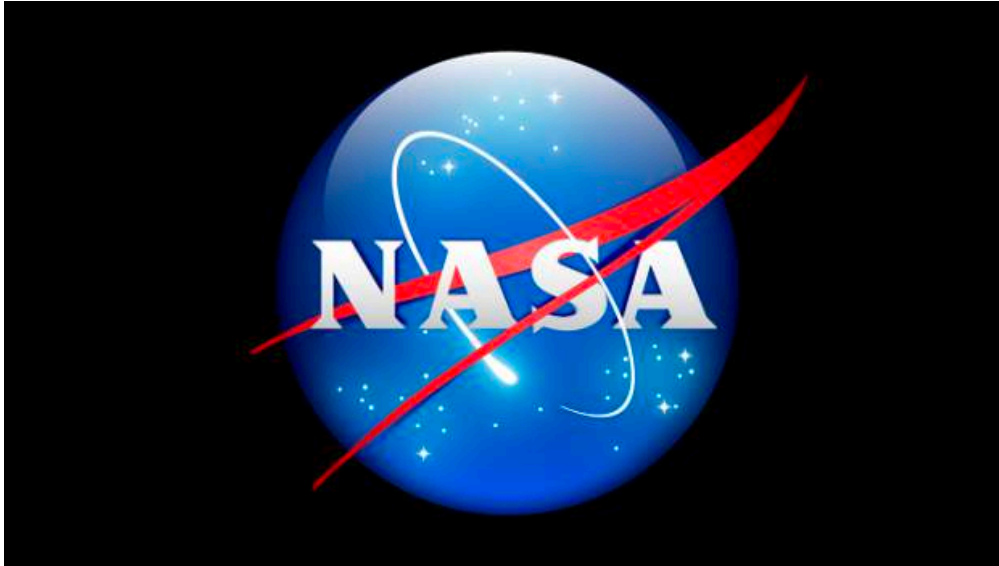


Datordriven annotering



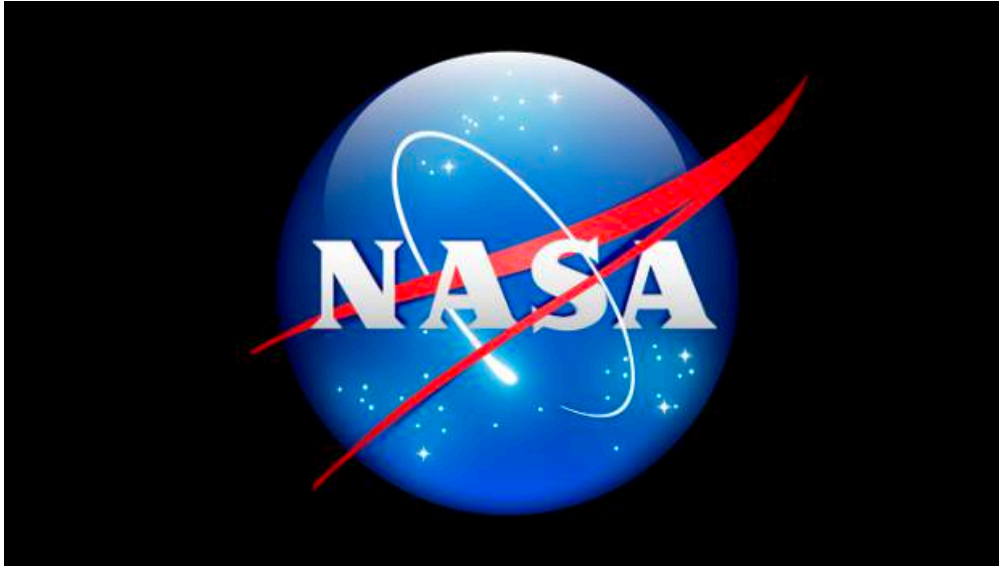
ST-array

Immunohistokemi



Hur påverkas man av att vara i rymden?

Vad händer med kroppen på molekylärt plan?



Tvillingstudie



Hur påverkas man av att vara i rymden?

Vad händer med kroppen på molekylärt plan?

- Nytt samarbete – Inga resultat ännu
- Tidigare genuttrycksanalyser:
 - DNA mer eller mindre oförändrat
 - Genaktivitet förändrad ---> Vissa gener aktiverade
 - Bl.a. Reparationsgener

Mars-projektet
***Hur kan NASA förbättra
förutsättningarna för
marsmänniskorna?***



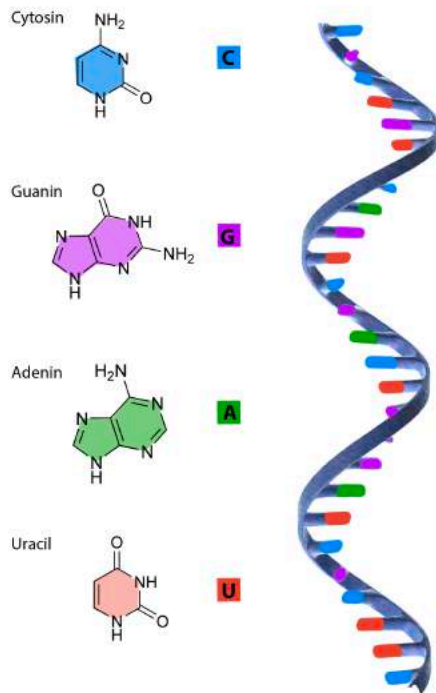


Tack för mig!

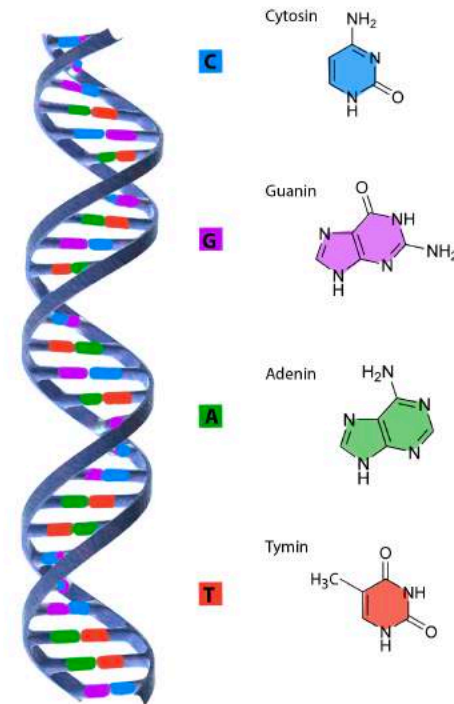
EXTRA

DNA och RNA

RNA



DNA



RNA är
enkelsträngat

RNA har basen
U istället för T

DNA bildar
baspar

